

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

ANDERSON BARROS TEIXEIRA PINTO

TIPAGEM SANGUÍNEA NO GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758)
EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO, BRASIL.

Campos dos Goytacazes

2011

ANDERSON BARROS TEIXEIRA PINTO

TIPAGEM SANGUÍNEA NO GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758)
EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal.

Orientador Professor Antonio Peixoto Albernaz

Campos dos Goytacazes

2011

ANDERSON BARROS TEIXEIRA PINTO

TIPAGEM SANGUÍNEA NO GATO DOMÉSTICO (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758)
EM CAMPOS DOS GOYTACAZES, RIO DE JANEIRO, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na Área de Concentração de Sanidade Animal.

Aprovada em 24 de março de 2011

BANCA EXAMINADORA

Professor Cláudio Baptista de Carvalho (D.Sc., Medicina Veterinária) - UENF

Prof^a Giane Regina Paludo (D.Sc., Patologia Molecular) - UnB

Prof. Leonardo Serafim da Silveira (D.Sc., Produção Animal) – UENF

Prof. Antônio Peixoto Albernaz (D.Sc., Produção Animal) - UENF

(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus que me auxiliou na compreensão do conhecimento necessário para realizar as pesquisas, mas acima de tudo me permitiu humildade para demonstrar meus limites quando eram necessários para caminhar;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pelo aprendizado teórico e prático para a formação em mestre;

Ao meu orientador Antonio Peixoto Albernaz pelo convívio durante 7 anos na faculdade, sendo 5 anos de graduação em Medicina Veterinária e 2 anos no mestrado. Primeiramente pela amizade e confiança nos meus trabalhos e experimentos realizados no setor de Patologia Clínica. Depois por ter me auxiliado no experimento e exigido quando necessitava para caminhar e “andar sozinho”;

Agradeço ao amigo Miguel Angelo da Silva Medeiros, doutorando em Clínica e Reprodução Animal da Universidade Federal Fluminense, na qual a mim confiou conhecimentos necessários para a realização dos protocolos laboratoriais do experimento, assim como materiais de processamento;

Para estes conhecimentos obtidos com o Miguel, o auxílio do professor Sergio Lisboa Machado e Helena Keiko Toma do setor de Hematologia e Biologia Molecular do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde neste setor recebi tais treinamentos dos testes de tipagem sanguínea por aglutinações e as titulações em PBS. Assim, como a professora e engenheira Química Maria Helena Leão do Centro de Ciências Humanas da Universidade Federal do Rio de Janeiro que me instruiu sobre as técnicas de diluição em 2-Mercaptoetanol. Além disso, agradeço a estes a imensa receptividade e possibilidade do uso das técnicas para meu aprendizado;

No início do experimento a amiga e Doutoranda em Ciência Animal do Hospital Veterinário Marcela Braga da Silva me ensinou e formou a solução tampão salino fosfato, importante para a realização das tipagens sanguíneas. Amiga a qual estimo muito desde antes da realização deste projeto;

Agradeço a equipe de trabalho, coleta e auxílio na realização dos experimentos, Alice Vieira, Osana Prado Melo, Clariana da Conceição Senna e Adriana Sasso. Amigas que correram comigo “para cima e para baixo” por vários locais da cidade para realizar as coletas. Trabalhos realizados com estas até tarde do dia para realizar os experimentos de tipagem e avaliação laboratorial da sanidade dos felinos. A bolsista Críscila de Souza Cruz em que me auxiliou também nos procedimentos laboratoriais, até mesmo essenciais para continuação das pesquisas. Não esquecendo a amiga Elisabete Sales Corrêa que me deu apoio tanto técnico quanto apoio por palavras, nas quais foram muito importantes para minha caminhada no mestrado;

Agradeço a amiga e Médica Veterinária Lívia Regina Estefanio Gonçalves na qual me forneceu apoio nas coletas e envio de amostras de animais provenientes de seus atendimentos na sua clínica particular “Cão que Mia”;

Aos técnicos do Laboratório Josias Alves Machado e Orlando Augusto Melo Júnior que me forneceram apoio na pesquisa, mas acima de tudo, todo conhecimento que adquiri no setor de Patologia Clínica, o que me configura no profissional atualmente, além da amizade destes. Agradeço aos técnicos clínicos médicos Ricardo Benjamin Machado Alves e Maria Angélica Dutra Viestel que também realizaram algumas coletas para o meu experimento;

Agradeço aos proprietários pela colaboração e por ter cedido os animais para as coletas e realizações dos procedimentos laboratoriais. Principalmente a Dona Sônia que me forneceu vários felinos de seu recinto;

Além de todos que me auxiliaram na tese diretamente, existem aqueles que de alguma forma me ajudaram na dissertação com palavras de apoio e base para a conclusão da dissertação. Em especial, portanto, amigos como Douglas de Souza Paiva e Liana Wermelinger de Matos;

Para o meu aprendizado prático em aulas, eu agradeço aos alunos pelo amadurecimento, aprendizado e até mesmo sabedoria para a minha formação. Dificuldades e confiança me permitiram o ensino para estes do conteúdo em algumas aulas do curso de Medicina Veterinária.

EPÍGRAFE

“Agradecemos

Senhor Jesus, nós te agradecemos pela coragem de faciar as dificuldades criadas por nós mesmos;

Pelas provas que nos aperfeiçoam o raciocínio e nos abrandam o coração, pela fé na imortalidade;

Pelo privilégio de servir;

Pelo dom de saber que somos responsáveis pelas nossas próprias ações;

Pelos recursos nutrientes e curativos que trazemos em nós próprios;

Pelo conforto de reconhecer que a nossa felicidade tem o tamanho da felicidade que fizemos para os outros;

Pelo discernimento que permite diferenciar aquilo que nos é útil daquilo que não nos serve;

Pelo amparo da afeição no qual as nossas vidas se alimentam em permuta constante;

Pela benção da oração que nos faculta apoio interior para a necessária solução de nossos problemas;

Pela tranqüilidade de consciência que ninguém consegue subtrair-nos;

Por tudo isso e por todos os demais tesouros de esperança e de amor, de alegria e de paz de que nos enriquecem a existência, se é bem dito ao mesmo tempo em que te louvamos a infinita misericórdia hoje e para sempre.”

Livro “Mensagem de Luz”

Emmanuel

Francisco Cândido Xavier

DEDICATÓRIA

Dedico essa dissertação aos meus pais Anilton Teixeira Pinto e Ana de Cássia Barros Teixeira Pinto, porque sem eles nada em minha vida seria possível;

Dedico também aos meus irmãos Anilton Barros Teixeira Pinto e Mônica Barros Teixeira Pinto e aos meus sobrinhos Karina Pettersem Teixeira Pinto e Igor Nunes Teixeira Pinto.

RESUMO

Pinto, Anderson Barros Teixeira, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março, 2011. Tipagem sanguínea no gato doméstico (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758) em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. Orientador: Antonio Peixoto Albernaz

A área da hemoterapia necessita de testes de compatibilidade sanguínea confiáveis, como a tipagem sanguínea, para se evitar possíveis reações transfusionais e evitar a ocorrência de isoeritrólise neonatal. Os objetivos foram determinar as freqüências dos tipos sanguíneos, determinar a probabilidade de reação transfusional, obter os títulos de aloanticorpos anti-eritrocitários em felinos da cidade de Campos dos Goytacazes e introduzir uma nova técnica de tipagem sanguínea. A importância deste estudo se deve à precariedade de informações nas regiões do país, principalmente entre raças puras de felinos, e devido ao crescente número de felinos portadores do tipo sanguíneo B, portanto sendo necessária a diferenciação de indivíduos tipo sanguíneo A, do tipo sanguíneo B e do AB para que possa ser feito um tratamento hemoterápico e selecionar reprodutores que possuem compatibilidade sanguínea para se evitar a isoeritrólise neonatal em uma ninhada. Foram coletadas 100 amostras sanguíneas de felinos para a realização da tipagem sanguínea utilizando plasmas reagentes anti-A e anti-B conhecidas, e através dos plasmas armazenados as realizações dos testes comprobatórios e titulações de aloanticorpos anti-A e anti-B em diluições ao tampão salino fosfato a 0,9% e 2-Mercaptoetanol a 0,2M. Foi realizada a estatística descritiva para a obtenção da distribuição das freqüências dos tipos sanguíneos e através deste obtido os cálculos de probabilidade para obtenção do risco reação transfusional aleatória e através do teste de qui-quadrado avaliar a relação entre os títulos e as idades dos animais. A distribuição das freqüências dos grupos sanguíneos foram 96% de felinos com tipo sanguíneo A e 4% de felinos com tipo sanguíneo B, não sendo encontrado na amostra populacional felino tipo AB, corroborando com estudos prévios. Há um grande risco de reação adversa através da transfusão sanguínea randomizada entre felinos não tipados previamente. A proporção dos títulos dos aloanticorpos anti-B foram semelhantes aos relatados na literatura, com 1,04%, 16,67%, 31,25%, 39,58%, 11,46% para os títulos 0, M, 2, 4 e 8, respectivamente. No entanto, os títulos de anti-B nas diluições ao 2-Mercaptoetanol foram os mesmos em relatos prévios, onde todos apresentaram título 0. Dos 4 plasmas dos felinos tipo B, foram obtidos títulos de 32, 64, 128 e 256, no entanto ao tratamento ao 2-ME houve redução na atividade de aglutinação, e respectivamente os mesmos títulos foram 2, 8, 32 e 32, este portanto apresentando uma média geométrica semelhante à literatura. Não houve relação entre os títulos de aloanticorpos anti-B e a idade nos felinos. O tipo sanguíneo A foi o predominante na região seguido do tipo B com baixa predominância e o tipo AB sendo não identificado. Deve ser criado um cadastro de felinos domésticos de possíveis doadores sanguíneos. Todos os laboratórios de Patologia Clínica devem possuir equipamentos e técnicos aptos à realização da tipagem sanguínea em felinos domésticos.

Palavras-chave: Incompatibilidade sanguínea, grupos sanguíneos, reações adversas, gato doméstico, faixa etária.

ABSTRACT

Pinto, Anderson Barros Teixeira, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2011. Blood typing in domestic cat (*Felis catus*, LINNAEUS, 1758) in Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brazil. Teacher advisor: Antonio Peixoto Albernaz

The area of hemotherapy need reliable blood compatibility tests, like blood type, to avoid possible transfusion reactions in cats but it is also important to avoid neonatal isoerythrolysis. The importance of this study is due to the precariousness of information in the areas of the country, mainly among pure breeds of felines, and due to the crescent number of felines bearers of the blood type B, therefore being necessary the individuals' differentiation of the blood type A, of the blood type B and of AB to accomplish a transfusion and to select reproducers that possess blood compatibility to avoid the neonatal isoerythrolysis in a brood. Were collected 100 blood samples of felines for the accomplishment of the blood typing using known anti-A and anti-B reagents plasma, and through the stored plasmas the accomplishments of the comprovative tests and anti-A and anti-B aloantibodies titers in dilutions to the phosphate saline buffer to 0,9% and 2-Mercaptoethanol to the 0,2M. The

descriptive statistic was accomplished for the obtaining of the distribution of the frequencies of the blood types and obtained the calculations of probability for realization of the risk reaction in random transfusion and through the chi-squared test to evaluate the relationship among the titles and to the ages of the animals. The distribution of the frequencies of the blood groups was 96% of cats with blood type A and 4% of cats with blood type B, not finding in the population sample of cat type AB. There is a great risk of adverse reaction through the randomized blood transfusion among felines not previously identified. The proportion of the titers of the anti-B alloantibodies was similar to the explained in the literature, with 1,04%, 16,67%, 31,25%, 39,58%, 11,46% for the titles 0, M, 2, 4 and 8, respectively. However, the anti-B titers in the dilutions to the 2-Mercaptoetanol were the same ones in previous reports, where all presented title 0. Of the 4 plasmas of the type B cats, were obtained titers of 32, 64, 128 and 256, but to the treatment in 2-ME there was reduction in the agglutination activity, and respectively the same samples presented titers of 2, 8, 32 and 32. There was no relationship between the titers of anti-B alloantibodies and the age in the felines. The blood type A was the predominant in the area following by the type B with low predominance and the type AB being not identified. A register of possible blood donor's domestic felines should be created. All the laboratories of Clinical Pathology should possess equipments and capable technicians to the accomplishment of the blood typing in domestic felines.

Key-words: Mismatch blood, blood groups, adverse reactions, domestic cat, age group.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação dos isoantígenos de superfície eritrocitária de felinos domésticos.....	24
Figura 2: Transfusão sangüínea em felinos domésticos: doadores e receptores compatíveis e ideais para a realização da transfusão sangüínea.....	34
Figura 3: A amostra durante as lavagens em solução em PBS a 0,9%, armazenadas em tubo graduado Falcon.....	42
Figura 4: Resumo da titulação dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa nos plasmas dos felinos armazenados em microplaca.....	47
Figura 5: Resumo da titulação com 2-Mercaptoetanol dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa dos plasmas armazenados em microplaca.....	49
Figura 6: Resumo da titulação com 2-Mercaptoetanol dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa dos plasmas armazenados em microplaca.....	50
Figura 7: Distribuição das raças dos felinos na região de Campos dos Goytacazes, RJ.....	54
Figura 8: Proporção das raças puras conhecidas na região de Campos dos Goytacazes, RJ.....	54

Figura 9: Proporção dos felinos domésticos entre as faixas etárias na região de Campos dos Goytacazes, RJ.....	54
Figura 10: Distribuição das frequências dos grupos sanguíneos da amostra populacional dos felinos domésticos (n=100) no município de Campos dos Goytacazes, RJ.....	55
Figura 11: Determinação dos tipos sanguíneos em microscopia óptica (400 X) por aglutinação de hemácias.....	58
Figura 12: Confirmação da contratipagem através dos plasmas armazenados dos felinos tipados.....	59
Figura 13: Aglutinações “in vitro” de hemácias através da solução de lectina.....	61
Figura 14: Gráfico representando o número de amostras de plasmas para cada título de aloanticorpos anti-B.....	62
Figura 15: Titulação em diluições em PBS realizada em microplaca de 96 poços de plasmas com aloanticorpos anti-B, todas as titulações conferidas em microscopia óptica.....	63
Figura 16: Titulação em diluições em PBS realizada em microplaca de 96 poços de todos os plasmas com aloanticorpos anti-A, todas as titulações conferidas em microscopia óptica.....	64
Figura 17: Titulação realizada em microplaca de 96 poços de plasmas com aloanticorpos anti-B em diluições ao 2-ME, todas as titulações conferidas em microscopia óptica.....	65
Figura 18: Titulação em diluições em 2-ME realizada em microplaca de 96 poços de todos os plasmas com aloanticorpos anti-A, todas as titulações conferidas em microscopia óptica.....	66

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1: Frequência dos tipos sanguíneos dos felinos domésticos após a identificação dos antígenos eritrocitários.....55
- Tabela 2: Distribuição das principais frequências dos tipos sanguíneos de raças indeterminadas em todo mundo, e uma comparação com o estudo atual.....56
- Tabela 3: Distribuição das frequências dos tipos sanguíneos da raça Persa nas principais áreas do mundo, e uma comparação com o presente estudo.....57
- Tabela 4: Distribuição das frequências dos tipos sanguíneos da raça Siamês nas principais áreas do mundo, e uma comparação com o presente estudo.....57
- Tabela 5: Confirmação da tipagem sanguínea por contratipagem de grupo de felinos com tipo sanguíneo A e B.....60
- Tabela 6: Confirmação da tipagem sanguínea com a prova da Lectina.....61
- Tabela 7: Risco de reação adversa transfusional na escolha randomizada de receptores e doadores na amostra populacional de Campos dos Goytacazes, RJ.....62
- Tabela 8: Números de animais relacionados entre as variáveis títulos de aloanticorpos anti-B e faixa etária, e os cálculos de qui-quadrado.....67

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO -----	16
2- REVISÃO DE LITERATURA -----	18
2.1- FREQUÊNCIA DE GRUPOS SANGÜÍNEOS: AVALIAÇÃO GEOGRÁFICA E ENTRE RAÇAS PURAS DE FELINOS DOMÉSTICOS-----	18
2.2- HERDABILIDADE DOS GRUPOS SANGÜÍNEOS-----	21
2.3- ISOANTÍGENOS DE GRUPOS SANGÜÍNEOS DE SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA-----	23
2.4- ANTICORPOS DE OCORRÊNCIA NATURAL-----	25
2.4.1- Descrição e conceito -----	25
2.4.2- Formação dos anticorpos de ocorrência natural -----	26
2.4.3- Anticorpos Anti-A e Anti-B -----	27
2.4.4- Atividade hemaglutinante e hemolítica da IgM e IgG -----	28
2.4.5- Anticorpos incompletos -----	30
2.5- IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA TIPAGEM SANGÜÍNEA EM GATOS-----	31
2.5.1- Reações de incompatibilidade sangüínea -----	32
2.5.1.1- Reações transfusionais hemolíticas-----	32
2.5.1.2 – Isoeritrólise Neonatal-----	34
2.6- TIPAGEM SANGÜÍNEA E TESTE DE CONTRATIPAGEM-----	37
2.7- TITULAÇÕES DOS ANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B-----	38
2.8- TRATAMENTO COM 2-MERCAPTOETANOL-----	39
3- MATERIAL E MÉTODOS -----	40
3.1- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA-----	40
3.2- AMOSTRAGEM-----	40
3.3- COLETA E REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO-----	41
3.4- PREPARO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS-----	41
3.5- TIPOS SANGÜÍNEOS E PROVA DE CONTRATIPAGEM POR AGLUTINAÇÃO-----	42
3.5.1- Tipagem sangüínea das amostras sangüíneas -----	43
3.5.2- Contratipagem dos plasmas armazenados -----	44
3.6- CONFIRMAÇÃO DA TIPAGEM COM A PROVA DA LECTINA (proteína aglutinina de <i>Triticum vulgare</i>)-----	

3.7- TITULAÇÕES DOS ALOANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B-----	46
3.8- TITULAÇÕES DOS ALOANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B SOB TRATAMENTO COM 2-MERCAPTOETANOL (2-ME)-----	48
3.9- ANÁLISES DOS DADOS OBTIDOS-----	51
4- RESULTADOS-----	53
5- DISCUSSÃO-----	68
6- CONCLUSÃO-----	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	81
ANEXOS-----	89
ANEXO 1-----	89
ANEXO 2-----	93

1- INTRODUÇÃO

A tipagem sangüínea possui uma grande importância na área da hemoterapia em qualquer espécie animal para se evitar possíveis reações transfusionais, mas em felinos é também importante para se evitar a isoeritrólise neonatal (doença hemolítica do recém-nascido). Atualmente o uso de transfusão sangüínea tem aumentado na medicina felina e juntamente o risco de reação transfusional (HOHENHAUS, 2004; WEINGART et al., 2004). Transfusões sangüíneas realizadas entre gatos doadores e receptores que não possuem compatibilidade sangüínea podem resultar em reação transfusional aguda, particularmente severa quando o sangue tipo A é transfundido em um gato tipo B, pois geralmente este último possui altos níveis de aloanticorpos de ocorrência natural. Nestes casos, poucos mililitros de sangue são suficientes para causar uma reação que pode ser eventualmente fatal (KNOTTENBELT, 2002).

Somente um sistema de grupo sangüíneo foi identificado no gato doméstico, considerando que uma gama de sistemas é reconhecida em cães, humanos, cavalos e outras espécies (BELL, 1983). O grupo sangüíneo do gato doméstico foi identificado em 1900 (INGEBRIGSTEN, 1912; OTTENBURG; THALHIMER, 1915) e a partir dos anos 50 foi identificado pelo método de aglutinação por aloanticorpos, identificando apenas de dois tipos sangüíneos (EYQUEM et al., 1962; HOLMES, 1950).

Níveis detectáveis de anticorpos de ocorrência natural contra antígenos de diferentes grupos sangüíneos foram inicialmente detectáveis em gatos em 1953 (HOLMES, 1953; KNOTTENBELT et al., 1999a) e possivelmente possa ser resultado da exposição por epítomos de uma variedade de organismos, incluindo plantas, bactérias e protozoários, que são similares ou idênticos aos antígenos de grupos sangüíneos (MALE, 1996; TIZARD, 2002).

Os tipos sangüíneos comuns são o tipo sangüíneo A e tipo sangüíneo B, com o tipo A dominante para o tipo B. A nomenclatura que designa estes 2 tipos, A e B, foi primeiro utilizada em 1962. Um tipo sangüíneo raro conhecido como AB

identificado em 1980 (AUER; BELL, 1980; EYQUEM et al.,1962; HOHENHAUS, 2004), na qual mostra a aglutinação com ambos anti-A e anti-B, não foi definido claramente, mas se suspeita que sejam alelos aos tipos A e B (AUER; BELL, 1981; GRIOT-WENK, 1993).

Tipos sanguíneos felinos e tipos sanguíneos incompatíveis, incluindo diferenças geográficas, modos de herança, severidade de reações transfusionais e incidência de isoeritrólise neonatal, têm sido estudados amplamente durante as últimas duas décadas (AUER; BELL, 1981; GIGER et al., 1991a; GIGER, 2000). A determinação das frequências do tipo A, B e AB em populações de raças de gatos pode auxiliar na avaliação do risco de reações transfusionais por meio de transfusões incompatíveis e o risco da ninhada nascer com isoeritrólise neonatal com pais de tipos sanguíneos desconhecidos (ARIKAN et al., 2003). Frequências de tipos sanguíneos felinos em várias regiões do país são desconhecidas, e o risco de transfusões incompatíveis e isoeritrólise neonatal também são desconhecidos (MEDEIROS et al., 2008).

A importância deste estudo se deve à precariedade de informações nas regiões do país, principalmente entre raças puras de felinos (LACERDA et al., 2008), sendo uma pesquisa de suma importância na clínica médica veterinária devido ao crescente número de felinos portadores do tipo sanguíneo B, portanto sendo necessária a diferenciação de indivíduos do tipo sanguíneo A, do tipo sanguíneo B e do AB para que possa ser feito um tratamento hemoterápico (HOHENHAUS, 2004). Portanto, há necessidade de tipagem de maior número de animais para que se tenha um cadastro destes, caso venham a necessitar de transfusão sanguínea ou na seleção de reprodutores, além de tornar a tipagem sanguínea parte da rotina clínica médica felina quando necessitar de transfusão sanguínea.

Assim, os objetivos deste estudo foram determinar a frequência de tipos sanguíneos felinos, determinar a probabilidade de uma reação após a transfusão sanguínea, obter os títulos de aloanticorpos anti-eritrocitários em felinos e introduzir uma nova técnica de tipagem sanguínea na cidade de Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

2- REVISÃO DE LITERATURA

2.1- FREQUÊNCIA DE GRUPOS SANGÜÍNEOS: AVALIAÇÃO GEOGRÁFICA E ENTRE RAÇAS PURAS DE FELINOS DOMÉSTICOS

A frequência de tipos A, B e AB varia geograficamente e entre raças (GIGER et al., 1991a; GIGER, 2009). O tipo A é o tipo sangüíneo predominante mundialmente, embora a prevalência do tipo A, B e AB dentro da população felina difere entre gatos domésticos puros (raças específicas) e gatos mestiços. Em torno de 99% dos gatos domésticos nos Estados Unidos são do tipo sangüíneo A, mas isto varia geograficamente nos Estados Unidos e ao longo do mundo (AUER; BELL, 1980; GIGER et al., 1991a; GIGER et al., 1991b; GIGER et al., 1992a; HAARER; GRUNBAUM, 1993; HOLMES, 1950; JENSEN et al., 1994). No entanto, estudos na Austrália e em países europeus têm demonstrado que a prevalência de gatos tipo B em populações de gatos mestiços pode variar de 0 a 20% (BAGDI et al., 2001; GIGER et al., 1992b; KNOTTENBELT et al., 1999b; MYLONAKIS et al., 2001). Em contraste, a frequência de tipo sangüíneo não parece variar geograficamente entre raças puras, embora algumas regiões e raças pudessem ter uma frequência diferente (ARIKAN et al., 2006; GIGER, 2000; KNOTTENBELT, 2002). O tipo B tem sido encontrado de 10 a 59% em muitas raças de gatos, incluindo Abissínio, Birmanes, British Shorthair, Exotic Shorthair, Devon Rex, Cornish Rex, Himalaya, Persa, Somali, o Turco do lago Van, Angorá Turco e outros gatos de sangue puro, algumas frequências tem sido estabelecidas em estudos de mais de 1000 gatos em raças específicas (ARIKAN et al., 2003; GIGER et al., 1991b; GIGER, 2000).

Na Turquia, foi relatado que 46% dos Angorás Turcos e 60 % dos gatos Van turcos possuem tipo sangüíneo B (ARIKAN et al., 2003). Em contraste, gatos tipo AB são muitos raros (<1%) em ambos os gatos, de raça ou não, estudados mundialmente (GRIOT-WENK et al., 1996). Gatos tipo AB são encontrados

somente naquelas raças, que possuem tipo B em sua população, incluindo gatos de raças puras ou mestiços. O tipo sangüíneo não tem sido associado ao gênero ou à cor da pele (HOHENHAUS, 2004).

O tipo A é o mais comum onde aproximadamente 95 % de todos os gatos pertencem a este tipo. As raças Siamês e orientais são praticamente todas do tipo A. O tipo AB é relativamente raro e podem ser notados em certas famílias de Birmaneses, Pêlo curto britânico, Scotttish Folds, Somali e Sphynxes. O tipo B é visto em algumas regiões geográficas e em certas raças. Na região Noroeste da América do Norte, por exemplo, tem aproximadamente 6 % de gatos tipo B. Na raça Devon Rex, aproximadamente 41 % dos gatos tem tipo sangüíneo B, e na raça Pêlo curto britânico, aproximadamente 36 % são tipo AB (ELDREDGE et al., 2007). Poucas raças felinas possuem uma freqüência alta do tipo B. O Siamês, Tonquinese e Birman são quase fixos para o tipo A, considerando que a prevalência do tipo B das raças British shorthair, Birman, Devon Rex e Cornish Rex pode variar entre 25-50% (ELDREDGE et al., 2007; GIGER et al., 1991a). Embora gatos do tipo B são raros em populações de felinos, as misturas de raças estão aumentando a freqüência de gatos tipo B. Por exemplo, gatos tipo B são mais comuns em populações na Califórnia (GIGER et al., 1991b) e Austrália do que na Europa e o resto dos Estados Unidos (MALIK et al., 2005). Devido a este aumento da freqüência de felinos tipo B, deve ser necessário mensurar ambos os tipos A e B para transfusões de sangue.

A freqüência de tipos sangüíneos varia com o local e raça do gato. Nos Estados Unidos de 0,3 % (nordeste) a 4,7% (costa oeste) dos gatos mestiços de pêlo curto e pêlo longo são do tipo B, mas até 50% de gatos em certas raças são tipo B (GIGER et al., 1991b; KANEKO et al., 2008). Em contraste com a baixa prevalência de gatos tipo B em gatos de raças mestiças nos Estados Unidos, um terço dos gatos mestiços na Austrália é tipo B (MALIK et al., 2005).

De acordo com Giger (2002), as percentagens dos tipos sangüíneos em algumas raças específicas demonstram que há predisposição genética de determinação destes tipos. As raças Siamês, Burmese, Tonquinese, American Shorthair e Oriental shorthair são todas somente do tipo sangüíneo A. Já raças como Maine Coon Cat, Norwegian Forest Cat apresentam de 1 a 10% tipo

sangüíneo tipo B. As raças Abyssinian, Birman, Himalaya, Japanese Bobtail, Persa, Scottish Fold, Somali e Sphynx possuem uma freqüência de 10 a 25% tipo sangüíneo B (ELDREDGE et al., 2007).

Embora em alguns países gatos mestiços ou sem raça são exclusivamente tipo A, trabalhos em gatos mestiços em Brisbane (Austrália) em 1981 e Sydney em 2005 (AUER et al., 1981; MALIK et al., 2005) indicam uma freqüência de tipo B de 27% e 36%, respectivamente. O tipo AB ocorre raramente em todo o mundo (< 1%) e somente em raças em que ocorrem gatos tipos B. Relatada em grandes pesquisas nos Estados Unidos, a freqüência informada de tipos sangüíneos tipo B em Abissínios e Somalios é aproximadamente de 16% e 18%, respectivamente (BARRS et al., 2009; GIGER, 2009).

A distribuição dos tipos sangüíneos varia de acordo com a região geográfica e entre as diferentes raças de felinos, mas pouco se sabe sobre os felinos do Brasil. Os resultados de estudos no país coincidem com a maior parte dos estudos em outros países, entretanto, têm sido observadas diferenças nas prevalências dos tipos sangüíneos em raças puras. As raças Abyssinian, Birman, Persa, Devon Rex, Cornish Rex, Van Turco e Turco Angorá têm apresentado prevalências de tipo B acima de 10% (GUERRA et al., 2007). Por outro lado, algumas raças como Siamês, Oriental Shorthair e Tonkinese possuem exclusivamente tipo sangüíneo A (GIGER et al., 1991a; GUERRA et al., 2007). No Brasil, poucos animais de raças puras são estudados. Em um estudo feito por Guerra et al. (2007) em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, foram tipados 17 gatos da raça Siamês, sendo 100% deles do tipo A, mas o mesmo não pode ser aplicado para as raças Himalaya e Persa tipados, pois foram encontrados os tipos A e B, mostrando a importância do conhecimento prévio do tipo sangüíneo destes indivíduos antes de transfusões ou seleção de reprodutores.

Em um trabalho mais recente realizado na cidade do Rio de Janeiro por Medeiros et al. (2008) mostrou que 94,8 % dos gatos tipados foram classificados como grupo sangüíneo A. Neste mesmo trabalho a freqüência de felinos com tipo sangüíneo B foi de 2,9 % e felinos com tipo sangüíneo AB foi de 2,3 %.

2.2- HERDABILIDADE DOS GRUPOS SANGÜÍNEOS

O grupo de Giger na Filadélfia posteriormente estendeu seu entendimento sobre o sistema AB felino em uma detalhada série de investigações. Tipos sangüíneos A e B são herdados como características simples Mendelianas transmitidas por genes que codificam para o tipo sangüíneo A e B presentes no mesmo locus. O tipo A é dominante em relação ao tipo B (GIGER et al., 1991a; MALIK et al., 2005). Felinos tipo A podem ser heterozigotos ou homozigotos. Gatos tipo B são homozigotos. O terceiro alelo, AB, que é recessivo para o alelo A, mas é dominante em relação ao alelo B, acredita-se determinar a herança do tipo AB (GRIOT-WENK et al., 1996). A presença de antígenos A e B em fetos felinos pode ser identificada a partir dos 38 dias de gestação (HOHENHAUS, 2004).

O terceiro grupo sangüíneo felino, conhecido como AB, foi descrito em 1980, no entanto felinos com eritrócitos sem estes antígenos A e B, não têm sido descritos (AUER; BELL, 1980; HOHENHAUS, 2004). Apesar de usar a mesma nomenclatura como é aplicada aos grupos sangüíneos humanos, não há nenhuma relação sorológica entre os grupos do sistema sangüíneo AB felino e os grupos do sistema sangüíneo ABO humano (HOHENHAUS, 2004).

Os tipos sangüíneos em um sistema de grupo sangüíneo são normalmente herdados como co-dominantes, isto é, os indivíduos heterozigotos expressam ambos os antígenos eritrocitários. O alelo A é completamente dominante sobre o alelo B. Assim, todos os gatos tipo B são homozigóticos para o alelo "b" (genótipo b/b), considerando que gatos tipo A podem ser homozigóticos ou heterozigóticos para o alelo A (genótipo A/A ou A/b). Para acrescentar além da complexidade, pensa-se que o alelo AB seja recessivo para o alelo A, mas dominante sobre o alelo b, embora algumas das informações observadas sugerissem mais do que um mecanismo para a ocorrência de gatos AB (MALIK et al., 2005).

De acordo com Griot-Wenk et al., (1996), o tipo sangüíneo AB ocorreu somente em raças em que o tipo B foi também detectado. A análise genética de famílias de gatos com tipo sangüíneo AB é consistente com a hipótese da existência

dos três alelos. Portanto, pode haver um mecanismo adicional responsável pela herança do tipo sangüíneo AB em gatos.

A tipagem sangüínea também é um fator importante para a criação de gatos. Até mesmo se eles nunca tivessem sido expostos ao sangue tipo A, todos os gatos tipo B produzem anticorpos contra o sangue tipo A, a partir dos 3 meses de idade. Isso significa que se uma gata com tipo sangüíneo B acasala com um macho com tipo sangüíneo A, os filhotes que nascem com o tipo A podem ser afetados por isoeritrólise neonatal como enfermidade, que são expostos aos anticorpos tipo A do leite de sua mãe. Até o momento que se pode notar algum sinal de isoeritrólise neonatal, pode ser muito tarde para salvar os filhotes. Desta maneira, Gatos adultos para serem usados para criação devem ser tipados (machos e fêmeas) (ELDREDGE et al., 2007).

O criador não deve permitir que nasçam filhotes com diferentes tipos sangüíneos em relação à mãe. Se estiver criando uma fêmea tipo B com um macho tipo A, deve-se evitar que os filhotes sejam amamentados pela mãe. Cuidados com os filhotes requerem, portanto, uma preparação prévia e compromisso sério (ELDREDGE et al., 2007).

A tipagem pode ser feita utilizando reagentes da Universidade da Pennsylvania nos Estados Unidos da América (EUA) usando amostras sangüíneas e pelo Laboratório Veterinário de genética da Califórnia (EUA) usando um teste genético. Porém, nos laboratórios tem sido optado realizar os testes de tipagem sangüínea utilizando uma solução de lectina de *Triticum vulgare* que aglutinam tipos sangüíneos que possuem antígeno B na membrana de eritrócitos, e a partir de um conhecido tipo sangüíneo B irá utilizar o plasma que contém anticorpos anti-A para diferenciar o tipo sangüíneo B do tipo sangüíneo AB (ELDREDGE et al., 2007).

2.3- ISOANTÍGENOS DE GRUPOS SANGÜÍNEOS DE SIGNIFICÂNCIA CLÍNICA

O sistema de grupo sanguíneo AB é o único sistema de antígenos de células vermelhas conhecido em gatos e contém três tipos sanguíneos: tipo A, B e o raro tipo AB (AUER; BELL, 1981, GIGER, 2000). Grande número de antígenos protéicos e carboidratos complexos estão presentes na superfície externa dos eritrócitos. Alguns antígenos estão presentes em eritrócitos de todos os membros das espécies, e outros (incluindo isoantígenos de grupo sanguíneo) segregados geneticamente, aparecendo em alguns, mas não em todos os membros de algumas espécies. Isoantígenos de grupos sanguíneos são detectados sorologicamente nas superfícies de eritrócitos utilizando aglutinação ou testes hemolíticos (KANEKO et al., 2008).

Com estudos genéticos detalhados, esses antígenos podem ser colocados entre grupos sanguíneos (sistema de isoantígenos de eritrócitos). Cada grupo sanguíneo possui um locus individual cromossomal, e cada locus tem de dois a mais genes alélicos (KANEKO et al., 2008). A maioria dos grupos sanguíneos (tais como o sistema ABO em humanos) deriva sua antigenicidade da composição de carboidratos de glicoproteínas e glicolipídios associados à membrana. Grande parte dos antígenos é produzida por células eritróides, mas alguns, assim como o grupo J em bovino, o grupo DEA-7 em cães, o grupo R em ovinos, e os grupos A e O em porcos, são produzidos por outros tecidos e absorvidos pelo plasma (KANEKO et al., 2008; PENEDO, 2000).

Metade dos carboidratos específicos presentes nos glicolipídios da membrana dos eritrócitos constitui os principais componentes dos antígenos A e B (ANDREWS et al., 1992; KANEKO et al., 2008).

Os isoantígenos variam em seu potencial por causarem reações transfusionais quando o sangue é transfundido entre animais incompatíveis. Muitos isoantígenos são fracos (não induzindo anticorpos com altos títulos) ou induzem anticorpos que não atuam em temperatura corporal normal. Felizmente somente alguns poucos antígenos parecem ser importantes em produzir doença hemolítica em animais (KANEKO et al., 2008).

Incompatibilidades no sistema de grupo sanguíneo AB de gatos têm sido identificadas por causarem reações transfusionais e isoeritrólise neonatal (AUER; BELL, 1983; GIGER; BÜCHELER, 1991a; HUBLER et al., 1987). Os isoantígenos A e B (tipos sanguíneos) resultam da ação de dois diferentes alelos no mesmo locus genético, com A sendo dominante em B (KANEKO et al., 2008). Foram caracterizados bioquimicamente os epítomos de carboidratos fundamentando o sistema AB com os ácidos siálicos ácido N-glicolineurâmico e ácido N-acetilneurâmico, correspondendo ao oligossacarídeo e antígeno A e B, respectivamente, em uma ceramida dihexosídeo (ANDREWS et al., 1992; MALIK et al., 2005). Hemácias de gatos tipo A possuem glicolipídios com radical terminado com ácido N-glicolilneurâmico (NeuGc) em suas superfícies, considerando que hemácias de gatos tipo B têm glicolipídios com terminação N-acetilneurâmico (NeuAc) em suas superfícies como pode ser verificado na figura 1. Devido à enzima CMPN- hidroxilase acetilneurâmico converter NeuAc em NeuGc, tem sido proposto que falta esta enzima em gatos tipo B. Gatos raramente expressam ambos antígenos tipo A e tipo B (tipo AB) em eritrócitos (KANEKO et al., 2008).

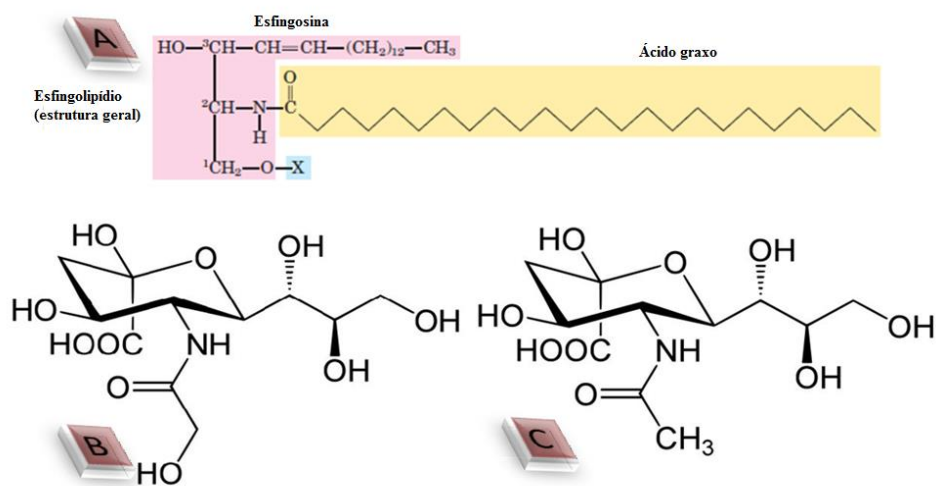


Figura1: Representação dos isoantígenos de superfície eritrocitária de felinos domésticos: A) Estrutura geral do esfingolípido com o radical oligossacarídico e ácido siálico representado pela letra X; B) Radical ácido N-Glicolineurâmico; C) Radical ácido N-Acetilneurâmico. Fonte: NELSON et al. (2004).

De acordo com Griot-Wenk et al. (1996), gatos com tipo sanguíneo AB expressam aspectos bioquímicos de antígenos tipo A e tipo B. Estes autores ainda citam que o tipo AB ocorre somente em raças em que o tipo B foi também detectado.

Um novo antígeno de grupo sangüíneo, descrito como *Mik*, tem sido relatado em gatos domésticos de pêlo curto que é capaz de induzir uma reação hemolítica transfusional quando hemácias Mik-positivas são transfundidas em um gato receptor Mik-negativo que tem naturalmente ocorrente aloanticorpos anti-Mik em seu plasma (KANEKO et al., 2008; WEINSTEIN et al. , 2007).

2.4- ANTICORPOS DE OCORRÊNCIA NATURAL

2.4.1- Descrição e conceito

Embora a descrição de isoaglutininas em gatos saudáveis tenha sido realizada no princípio do último século, foi a partir da década de 50 que o sistema do grupo sangüíneo começou a ser caracterizado utilizando estes anticorpos de ocorrência natural. Altos níveis de aloanticorpos naturais (também conhecidos como isoanticorpos) ocorrem em gatos e são conduzidos contra antígenos A ou B. Isso é similar à situação do sistema ABO em humanos, mas ao contrário da situação em cães, onde anticorpos são normalmente formados somente depois da exposição dos antígenos dos eritrócitos (MALIK et al., 2005).

Felizmente, anticorpos de ocorrência natural de significado clínico raramente ocorrem em animais, conseqüentemente, reação transfusional para eritrócitos incompatíveis geralmente não ocorrem no momento da primeira transfusão sangüínea. No entanto, exceções podem ocorrer como no caso do sistema de grupo sangüíneo AB em gatos onde gatos positivos tipo B têm anticorpos de ocorrência natural anti-A com altos títulos hemolíticos (KANEKO et al., 2008). Estes anticorpos são de grande importância na prática clínica porque podem provocar reações de incompatibilidade sangüínea em gatos (ARIKAN; AKKAN, 2004).

Embora os antígenos de superfície dos eritrócitos no sistema de grupo sanguíneo AB felino sejam diferentes daqueles do sistema de grupo sanguíneo humano ABO, gatos também possuem ocorrentes aloanticorpos naturais (também conhecidos como isoanticorpos) contra o antígeno do grupo sanguíneo ausente (ARIKAN; AKKAN, 2004; ARIKAN et al., 2006).

2.4.2- Formação dos anticorpos de ocorrência natural

Alguns sistemas de grupos sanguíneos, tais como o grupo ABO em humanos, o grupo AB e grupo *Mik* em gatos, e o grupo A em suínos, são caracterizados por anticorpos “naturalmente ocorrentes (TIZARD, 2000; WEINSTEIN et al. , 2007). Em outros grupos sanguíneos, tal como o sistema Rh em humanos e a maioria dos grupos sanguíneos em animais, a formação de anticorpos resulta de exposição prévia a diferentes isoantígenos de eritrócitos via transfusão, prenhez, ou vacinação com produtos contendo antígenos dos grupos sanguíneos (STORMONT, 1982).

Baseado no desenvolvimento precoce e ocorrência de anticorpos sem a exposição prévia de quaisquer antígenos de grupos sanguíneos por transfusão ou gestação, estes anticorpos anti-A e anti-B são considerados de ocorrência natural. Porém, estes anticorpos são conseqüências de determinantes antigênicos que comumente ocorrem na natureza (BÜCHELER; GIGER, 1993; TIZARD, 2002; WILKERSON et al., 1991). No nascimento, filhotes tipo B não possuem anticorpos detectáveis em seu plasma, mas adquirem altos títulos de anticorpos anti-A durante os primeiros 2 dias, por meio da transferência passiva via colostro de fêmeas tipo B. Estes títulos pouco decrescem durante as primeiras semanas de vida e possuem uma meia-vida semelhante aos outros anticorpos maternos. Filhotes tipo B nascidos por ambas fêmeas tipo A ou B desenvolverão anticorpos anti-A entre 6 - 8 semanas de idade. A razão para a ocorrência desses anticorpos não é conhecida, mas pode ser induzida por determinantes antigênicos semelhantes ou idênticos aos que

comumente estão presentes na natureza, assim como alimentos e antígenos bacterianos intestinais. Como os antígenos do grupo sanguíneo AB têm sido determinados por carboidratos compreendendo estes determinantes (ANDREWS et al., 1992; BUCHELER; GIGER, 1993), a indução de anticorpos pode ser de semelhante circunstância assim como o grupo sanguíneo humano, como o sistema ABO (BUCHELER; GIGER, 1993)

Como todos os gatos tipo B possuem anticorpos anti-A, é provável que os anticorpos sejam induzidos por um epítipo natural em que todos os gatos são geralmente expostos na idade jovem. Em humanos, pensa-se que os epítipos responsáveis são antígenos microbianos presentes em bactérias intestinais, embora em animais domésticos a origem destes epítipos ainda não está estabelecida. (KNOTTENBELT et al., 1999a)

Estudos anteriores mostram que anticorpos derivados matematicamente são baixos até a quinta semana de idade, mas que anticorpos anti-B endógenos não estão presentes até a sexta a oitava semana de idade (AUER; BELL, 1981).

Filhotes começam a produzir seus próprios anticorpos entre 5 e 7 semanas de idade, e os anticorpos atingem seus níveis máximos em 2 a 3 meses de idade. Os títulos baixos descritos em alguns gatos tipo B podem ser reflexos da idade do gato (BÜCHELER; GIGER, 1993; GURKAN et al., 2005).

2.4.3- Anticorpos Anti-A e Anti-B

Em relatos anteriores foram encontrados em gatos de moderados a altos títulos (geralmente > 1:32) de isoaglutininas anti-A em seus soros, ambos hemoaglutinando (principalmente IgM) e hemolisando (por fixação de complemento; ambos IgM e IgG). Um terço ou menos dos gatos tipo A possuem anticorpos

circulantes contra células tipo B, e geralmente com apenas poucos títulos (< 1:8), porém gatos tipo AB não possuem isoaglutininas (AUER; BELL, 1981).

De acordo com Bücheler e Giger (1993), na Filadélfia (EUA) nenhum gato adulto tipo B sem anticorpos anti-A foi encontrado. Esta informação confirma resultados anteriores da Austrália e Japão, apesar destes estudos relatarem que poucos gatos tipo B não apresentaram anticorpos anti-A (AUER; BELL, 1981; EJIMA et al., 1986).

Bücheler e Giger (1993) explanam que todos os gatos tipo A possuem aglutininas anti-B, apesar de usar a microscopia para detectar as reações de aglutinação. O envolvimento do anticorpo na reação de fraca aglutinação foi confirmado pela positividade do teste de antiglobulina direto. Somente um terço dos gatos tipo A possuem hemaglutininas e hemolisinas que atingem títulos de 16 e 32, respectivamente, assim como descritos por Auer e Bell (1981) na Austrália.

2.4.4- Atividade hemaglutinante e hemolítica da IgM e IgG

O anticorpo anti-A presente em gatos com tipo sanguíneo B possui um alto título hemolítico e aglutinante do que o encontrado no soro anti-B em gatos com tipo sanguíneo A. A IgM é a maior responsável pela atividade isoaglutinante. Os anticorpos anti-A em gatos com tipo sanguíneo B estão associados a títulos fortes de isoaglutininas e hemolíticos e são predominantemente da classe IgM (IKEMOTO; SAKURAI, 1981; WILKERSON et al., 1991).

De acordo com Bücheler e Giger (1993), Ikemoto e Sakurai (1981) e Wilkerson et al. (1991b), em estudo sobre as hemaglutininas em gatos tipo B, estes detectaram aglutinação na fração IgM do soro anti-A, mas nenhuma aglutinina foi encontrada para fração IgG. Confirmaram a função do IgM na aglutinação, mas incrementaram que encontraram algumas fracas atividades de aglutininas na fração

IgG após a filtração em gel. Esta fração IgG no anti-A pode ser importante na isoeritrólise neonatal, sendo que os filhotes adquirem os anticorpos maternos da classe IgG, mas poucos da classe IgM, via colostro durante os primeiros 2 dias de vida (BÜCHELER; GIGER, 1993; GIGER; BÜCHELER, 1991a).

O total de IgM que é absorvido e o título de isoaglutinina IgM será a variável importante na isoeritrólise neonatal. Outra variável importante pode ser o título de isoaglutinina de IgG, uma vez que o colostro contém 70 vezes mais IgG do que IgM. O IgG felino pode induzir a hemólise e, diferente da IgM e IgA, que tende a ligar proteínas secretórias e permanecer no intestino, a IgG é rapidamente absorvida no intestino (WILKERSON et al., 1991; PERRYMAN et al., 1973; SCHULTZ et al., 1974).

A atividade de aglutinação pode ser reduzida pelo tratamento por 2-Mercaptoetanol, indicando que a atividade de isoaglutinina na fração foi IgM (IKEMOTO; SAKURAI, 1981). Wilkerson et al. (1991) também relatam que a atividade de isoaglutinina anti-A identificada em soro armazenado de gatos tipo B consiste principalmente de IgM. Além disso, a atividade de isoaglutinina foi detectada na fração que estava associada com o IgG e que não estava contaminada por IgM. A hemólise ainda pode ser observada após o tratamento em 2-ME e imunoprecipitação. Portanto, as hemolisinas consistem de ambos IgM e IgG, embora atividade hemolítica em gatos tipo B aparentemente seja principalmente pela IgM (BÜCHELER; GIGER, 1993). Devido ao armazenamento do soro foi avaliado que é possível que a atividade de IgG estivesse presente em somente um gato. Esta atividade aglutinante pode estar associada à outra classe de anticorpo do que a IgG. A IgD e IgE não têm sido identificados no soro felino. A IgA está presente no soro felino, porém na proporção somente de 1/11 quando comparada com a IgG e, no soro felino, a IgA está presente como um dímero com uma pesada molécula de 360,000 Da (SCHULTZ et al., 1974; WILKERSON et al., 1991).

Devido aos fortes anticorpos anti-A, reações transfusionais severas têm sido identificadas somente em gatos tipo B quando recebem sangue tipo A (AUER et al., 1982; GIGER; AKOL, 1990; WILKERSON et al., 1991). Nas transfusões incompatíveis, todos os gatos tipo B destroem eritrócitos via hemólise intravascular mediada por complemento dentre minutos a poucas horas. Todos os gatos tipo B

têm altos títulos de anticorpos IgM e eritrócitos tipo A transfusionados nestes gatos se ligarão ao IgM que ativará o complexo lítico C5-9 resultando em hemólise intravascular. Diferentemente, gatos tipo A recebendo sangue tipo B não mostram quaisquer sinais clínicos significativos. Eritrócitos tipo B foram removidos da circulação dentre 5 dias, justificando a ineficaz transfusão, pois revestindo-se os eritrócitos tipo B com anticorpos anti-B da classe IgG e IgM há uma destruição das células transfusionadas mediadas por macrófagos. O título hemolisante de anticorpos IgM em gatos tipo A é aparentemente muito baixo para causar hemólise intravascular severa (BÜCHELER; GIGER, 1993).

Na Austrália, 96% das amostras de plasma tipo B examinadas possuem fortes aglutininas e hemolisinas, com títulos maiores ou iguais a 64 para aglutininas e maiores ou iguais a 512 para hemolisinas. Entretanto, somente 35% das amostras de plasma tipo A têm atividade aglutinante e hemolítica. Portanto, reações transfusionais severas em gatos tipo B recebendo sangue tipo A (AUER; BELL, 1981; AUER et al., 1982; BÜCHELER, GIGER, 1993; GIGER; AKOL, 1990; GIGER; BÜCHELER, 1991a) e isoeritrólise neonatal causada por anticorpos colostrais anti-A de gatas tipo B transferidos para filhotes tipo A têm sido descritos (BÜCHELER; GIGER, 1993; CAIN; SUZUKI, 1985; HUBLER et al., 1987; GANDOLFI, 1988; JONSSON et al., 1990).

2.4.5- Anticorpos incompletos

Por definição, anticorpos incompletos, não aglutinantes, são aqueles que se ligam a hemácias que possuem antígenos específicos, mas não as aglutinam em meio salino. Anticorpos IgM, ditos completos (ou aglutinantes), são capazes de aglutinar hemácias nessas condições. Os anticorpos incompletos necessitam de um mecanismo artificial de produção da aglutinação, já que, por serem pequenas

moléculas, não conseguem superar as forças de repulsão entre as hemácias (GIRELLO; KÜHN, 2002).

Em 1945, Coombs, Mourant e Race demonstraram que, sensibilizando-se animais (cabras ou coelhos) com injeções de imunoglobulinas humanas, haveria produção de anticorpos contra as frações Fc dessas imunoglobulinas. Portanto, o soro de Coombs contém anticorpos anti-anticorpos humanos (conhecidos como anti-globulinas humanas) (GIRELLO; KÜHN, 2002).

Como esses anticorpos podem reagir com qualquer imunoglobulina humana (não somente eritrocitárias), no teste de antiglobulina humana é necessário lavar as hemácias após a etapa de sensibilização e antes de acrescentar-se o sorzo de Coombs ou as antiglobulinas, a fim de se remover qualquer traço de soro ou plasma, deixando-as recobertas apenas com os anticorpos específicos (GIRELLO; KÜHN, 2002).

Entretanto, todos os gatos com tipo sangüíneo A possuem aglutininas anti-B, embora a avaliação microscópica seja necessária normalmente para a detecção de reações de aglutinações fracas. Às vezes até mesmo na avaliação microscópica não é possível detectar sequer alguma reação de aglutinação. O anticorpo envolvido nas reações de aglutinações fracas, ou capaz de se ligar ao antígeno eritrocitário e incapaz de promover alguma aglutinação, pode ser confirmado pelo teste de antiglobulina direta ou Coombs direto (AUER; BELL, 1981; BÜCHELER; GIGER, 1993).

2.5- IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA TIPAGEM SANGÜÍNEA EM GATOS

A presença de reações transfusionais severas em gatos tipo B recebendo sangue do tipo A (AUER et al., 1982; GIGER; AKOL, 1990; GIGER; BÜCHELER, 1991; WILKERSON et al., 1991) e de isoeritrólise neonatal causada por anticorpos

anti-A colostrais de gatas tipo B transferidos para filhotes tipo A tem sido descrita (BÜCHELER; GIGER, 1993; CAIN; SUZUKI, 1985; GANDOLFI, 1988; GIGER, 1991; HUBLER et al., 1987; JONSSON et al., 1990). O conhecimento sobre os tipos sanguíneos de diferentes espécies é de grande importância na medicina veterinária, visto que uma transfusão sanguínea incompatível pode resultar em uma reação transfusional hemolítica severa e até levar o animal à morte, em alguns casos (HOHENHAUS, 2004).

2.5.1- Reações de incompatibilidade sanguínea

2.5.1.1- Reações transfusionais hemolíticas

As transfusões de sangue são realizadas em felinos domésticos por várias razões, o emprego da transfusão é na sua maior parte devido à anemia por perda de sangue, anemia hemolítica e anemia devido à insuficiência medular. Outra indicação ocasional inclui metahemoglobinemia severa, pela intoxicação por paracetamol (BARFIELD; ADAMANTOS, 2011). Transfusão para anemia por insuficiência medular é mais comum em gatos do que em cães, possivelmente por causa da ocorrência comum, de insuficiência renal crônica e infecções retroviróticas em gatos (HOHENHAUS, 2004; KERL; HOHENHAUS, 1993). A anemia representa um desafio em termos de estabelecimento e apoio ao paciente. Administração apropriada da transfusão permite ao clínico mais tempo para investigar, diagnosticar e tratar a causa subjacente (BARFIELD; ADAMANTOS, 2011).

Devido à presença de aloanticorpos de ocorrência natural clinicamente relevante e da inexistência de doadores universais em felídeos, a compatibilidade

eritrocitária entre doador e receptor é obrigatória até mesmo na primeira transfusão sangüínea (MARQUES, 2010).

Incompatibilidade de tipo sangüíneo pode causar potencialmente reações que ameaçam a vida em duas situações. A primeira reação de incompatibilidade é a reação hemolítica transfusional, que está associada com uma anemia hemolítica severa, choque anafilático, e morte, especialmente quando um gato tipo B recebe sangue tipo A (AUER; BELL, 1983, GIGER; BUCHELER, 1991). Estas reações podem ser evitadas por tipagem do doador e gatos receptores antes da transfusão e pela administração de sangue tipado (GIGER; BUCHELER, 1991, GIGER 2000).

A severidade das reações transfusionais depende dos títulos de aloanticorpos do sangue do receptor (GIGER; BÜCHELER, 1991; WILKERSON et al., 1991). É estabelecido que gatos tipo B têm altos títulos de isoaglutininas de ocorrência natural contra células tipo A, e gatos tipo A geralmente têm baixos títulos de isoaglutininas contra eritrócitos tipo B (AUER; BELL, 1981; GIGER et al., 1989; KNOTTENBELT et al., 1999a; ARIKAN; AKKAN, 2004). Em contraste, gatos com tipo sangüíneo AB não possuem aloanticorpos em seus plasmas. Quando um gato tipo B é transfundido com sangue tipo A, poderá ocasionar em reações transfusionais severas. Como os gatos tipo A possuem baixos títulos de anticorpos anti-B em seus plasmas, ocorrerão reações transfusionais menos severas quando um gato tipo A é transfundido com sangue tipo B (GURKAN et al., 2005).

Portanto, sabe-se que o sangue do doador deverá ser compatível com o sangue do receptor, sendo estes felinos com o mesmo tipo sangüíneo, ou até mesmo o receptor ser universal, no caso com o tipo sangüíneo AB, podendo assim receber sangue tanto de felinos com tipo sangüíneo A quanto tipo sangüíneo B, pois o receptor AB não possui aloanticorpos naturais contra antígenos de membrana eritrocitários, embora hemólise intravascular possa acontecer no caso do tipo AB receber sangue de felinos tipo B que possuem altos títulos de aloanticorpos (GRIOT-WENK et al., 1996; HOHENHAUS, 2004). A figura 2 ilustra muito bem os receptores e doadores ideais após a determinação dos grupos sangüíneos destes animais.

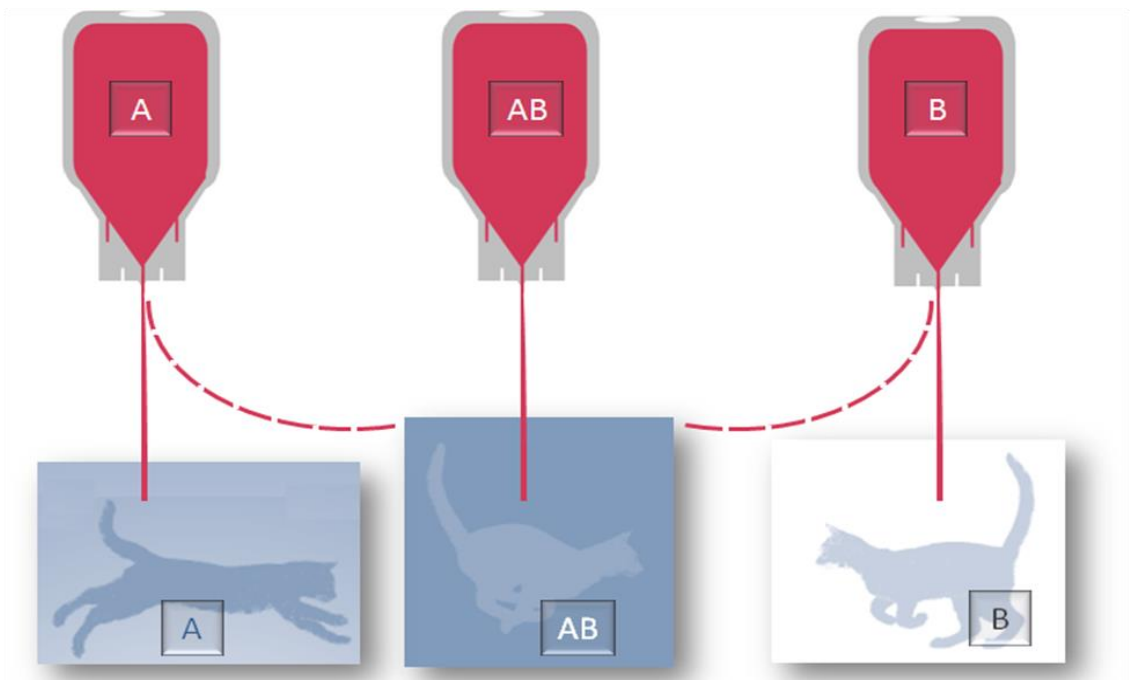


Figura 2: Transfusão sanguínea em felinos domésticos: doadores e receptores compatíveis e ideais para a realização da transfusão sanguínea. O tracejado consiste que o receptor tipo AB não apresenta aloanticorpos de ocorrência natural e que pode receber sangue de ambos os tipos sanguíneos A e B. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira. Montagem realizada em 17 de fevereiro de 2011.

2.5.1.2 – Isoeritrólise Neonatal

A segunda reação de incompatibilidade é a isoeritrólise neonatal felina, que ocorre quando filhotes tipo A ou tipo AB são amamentados por uma fêmea tipo B. A isoeritrólise neonatal é causada pela absorção de aloanticorpos anti-A que ocorrem naturalmente no colostro de fêmeas tipo B (ARIKAN et al., 2006). Após a ingestão, estes anticorpos causam destruição eritrocitária extravascular pelo sistema mononuclear fagocítico e hemólise intravascular por complemento. Pelo fato de não ocorrer a transferência placentária de anticorpos, geralmente os filhotes nascem saudáveis e fortes, mas depois da ingestão do colostro, aparecem os sinais clínicos em poucas horas ou dias. Alguns podem morrer em poucas horas sem a presença

de sinais clínicos. Outros param de mamar nos primeiros dias de vida e se enfraquecem (MALIK et al., 2005; SILVESTRE-FERREIRA; PASTOR, 2004).

Estes anticorpos são apenas transferidos por meio do colostro para o filhote durante o primeiro dia de vida e causa destruição das células vermelhas de filhotes tipo A ou tipo AB. Quando os anticorpos anti-A da mãe tipo B são absorvidos na área gastrointestinal do filhote tipo A ou AB, resulta em hemólise (CASAL et al., 1996; GIGER; CASAL, 1997).

Se filhotes com tipo sanguíneo A ou tipo AB nascem de uma fêmea tipo B, anticorpos colostrais se ligarão aos eritrócitos e os lisarão no recém-nascido. A hemólise pode ocorrer intravascularmente assim como extravascularmente resultando em anemia, hemoglobinúria, icterícia e morte. Todavia, todos os gatos tipo B adultos possuem altos títulos de aloanticorpos, filhotes tipo A de fêmeas primíparas tipo B estão em risco na ocorrência de Isoeritrólise neonatal. Os sinais da isoeritrólise neonatal podem ser hiperagudos, agudos ou subclínicos. Os autores identificaram vários filhotes tipo A que têm como anormalidade laboratorial apenas anemia e teste de Coombs positivo, mas nenhuma evidência clínica de isoeritrólise neonatal. Os fatores que determinam a severidade de hemólise não foram identificados. Além disso, eritrócitos dos filhotes com isoeritrólise neonatal foram Coombs positivo tanto para IgM quanto IgG. Em estudos anteriores altos títulos de IgG foram encontrados em colostro de gatas tipo B, considerando que a concentração de IgM colostrais foi baixa. Ainda se observou que filhotes sobreviventes raramente podem desenvolver necrose em rabo entre uma e três semanas após o parto, na qual foi observado por vários autores (BÜCHELER, GIGER, 1993; GANDOLFI, 1988; JONSSON, 1990).

Os eritrócitos ligados a IgM nestes filhotes podem causar uma reação por aglutininas frias com microaglutinação e estase vascular em locais onde a temperatura é mais baixa e que pode resultar na necrose de rabo. Importantes variáveis para o desenvolvimento de sinais clínicos de isoeritrólise neonatal podem ser o resultado do tempo de ingestão compreendido do colostro, título de IgG, permeabilidade intestinal para anticorpos e a atividade do sistema fagocítico no neonato (BÜCHELER, GIGER, 1993).

A presença de isoaglutininas IgG pode ter significância na fisiopatologia da isoeritrólise neonatal. Cogita-se que devido à absorção intestinal de isoaglutininas anti-A e isohemolisinas transferidas passivamente da fêmea no colostro são as causas da isoeritrólise. As isoaglutininas anti-A estão presentes sem nenhuma sensibilização prévia, a isoeritrólise neonatal pode ocorrer na primeira gestação. A isoeritrólise neonatal clínica, contudo, não é uma reação obrigatória, e os filhotes tipo A nascidos por fêmeas tipo B podem não apresentar sinais clínicos. – (WILKERSON et al., 1991).

Como sinais clínicos da isoeritrólise neonatal, os filhotes podem apresentar sinais agudos como hiperhemoglobinemias, hemoglobinúria severa, relutância ao amamentar, icterícia, anemia ou podem desenvolver um curso subclínico geralmente em associação com características de necrose de extremidade no rabo (até três semanas pós-parto), deduzido devido ao envolvimento de reação não expressiva de isoaglutininas (MALIK et al., 2005).

Reações experimentais em células tipo B em filhotes tipo B ao adquirirem anticorpos anti-B de gatos tipo A com títulos de hemaglutininas de 8 têm comprovado a causa transitória de reações transfusionais moderadas, caracterizadas por desconforto, desatenção, taquicardia e taquipnéia. Pode ser notado, no entanto, que a isoeritrólise neonatal sintomática não é obrigatoriamente um fenômeno em filhotes tipo A nascidos de fêmeas tipo B, e sinais podem variar de agudo (com morte súbita) a inaparentes (KNOTTENBELT et al., 1999a; MALIK et al., 2005).

Acredita-se que a isoeritrólise neonatal seja a causa principal da síndrome do filhote enfraquecido levando a morte do filhote. A isoeritrólise neonatal pode ser prevenida por marcações de incompatibilidade sangüínea entre fêmeas tipo B ou machos tipo AB e evitar o acasalamento de fêmeas tipo B com machos tipo A. Outra forma de prevenção é remover os filhotes tipo A ou AB da fêmea tipo B no nascimento, antes dos cuidados iniciais, e ser alimentados por uma fêmea tipo A ou substituir por leite comercial pelas primeiras 16 a 24 horas de vida (ARIKAN et al., 2006; GIGER; BUCHELER, 1991a; SILVESTRE-FERREIRA; PASTOR, 2004).

2.6- TIPAGEM SANGÜÍNEA E TESTE DE CONTRATIPAGEM

As amostras sangüíneas são coletadas em tubos contendo EDTA como anticoagulante. As amostras são mantidas a 4°C até a análise, e são tipadas em até 4 dias após a coleta, como descrito por Bucheler e Giger (1993) e Arikan e Akkan (2004).

Normalmente o tipo sangüíneo A é identificado usando soro ou plasma de um gato tipo B que possuirá anticorpos anti-A capaz de aglutinar hemácias que possuem antígenos eritrocitários que definem o tipo sangüíneo A, enquanto o sangue tipo B normalmente é identificado utilizando o *Triticum vulgare* que possui uma lectina ou aglutinina capaz de se ligar especificamente ao terminal do ácido acetilneurâmico (NeuAc) de uma proteína de membrana eritrocitária de 50 Kda dos eritrócitos tipo B (ARIKAN; AKKAN, 2004; BUTLER et al., 1991; GRIOT-WENK et al., 1993).

A albumina plasmática pode intensificar a aglutinação por diminuir o potencial zeta entre as células. A superfície das células vermelhas possui cargas elétricas negativas devido à presença de ácidos siálicos na membrana. A adição de macromoléculas de mesmo modo como a albumina do soro pode diminuir a repulsão natural entre as células, favorecendo a aglutinação. Por essa razão, a proteína, usualmente a albumina sérica bovina (BSA), é rotineiramente incluída nos reagentes de tipagem sangüínea humana para detectar os denominados anticorpos de fase albumina (MEDEIROS et al., 2008).

As amostras de plasma armazenadas de vários gatos domésticos de raças puras e de pêlo curto são usadas para ensaios “in vitro” de aglutinação ou contratipagem como anteriormente descrito (BÜCHELER et al., 1993; GIGER et al., 1989).

A aglutinação é graduada de 0 a 4+, com 0 sendo utilizada para amostras sem nenhuma aglutinação e 4+ sendo uma aglutinação semelhante a um grumo.

Estes padrões de aglutinação poderão ser usados tanto para ensaios de tipagens quanto para os ensaios de contratipagem dos plasmas armazenados como descrito por Bücheler e Giger (1993).

2.7- TITULAÇÕES DOS ANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B

Apesar de numerosos relatos documentados sobre as variações geográficas e entre raças na prevalência dos tipos sanguíneos felinos (HOLMES, 1950; EYQUEM et al., 1962; AUER; BELL, 1981; GIGER et al., 1989; GIGER et al., 1991; KNOTTENBELT et al., 1999a), a distribuição e título de anticorpos de ocorrência naturais têm sido pouco investigados no Brasil (LACERDA et al., 2008). De acordo com Arikan e Akkan (2004) e Knottenbelt et al. (1999a), os títulos de anticorpos não variam entre os sexos dos gatos.

A severidade clínica de uma reação transfusional tem sido relacionada aos títulos de aloanticorpos no receptor. Os títulos mínimos requeridos para resultarem em reações transfusionais de diferentes severidades não têm sido determinadas. Os títulos de aloanticorpos são também importantes para determinar a severidade de isoeritrolise neonatal (GURKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999a).

É estabelecido que gatos tipo B têm altos títulos de isoaglutininas contra células tipo A, e gatos tipo A têm geralmente baixos títulos de isoaglutininas contra eritrócitos tipo B (ARIKAN; AKKAN, 2004; AUER; BELLI, 1981; GIGER et al., 1989; GURKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999a).

2.8- TRATAMENTO COM 2-MERCAPTOETANOL

O tratamento do soro ou plasma com agentes redutores como 2-mercaptoetanol (2-ME), ditioneitol (DTT) ou isômeros ditioeritritol (DTE), é usado comumente na sorologia dos grupos sanguíneos para distinguir anticorpos IgG e IgM assim como, se a atividade dos anticorpos é anulada. É praticamente certo que os anticorpos em questão são da classe IgM (MOLLISON et al., 2005).

O anticorpo anti-A presente em gatos com tipo sanguíneo B possui alto título hemolítico e aglutinante do que o encontrado no soro anti-B em gatos com tipo sanguíneo A. Ikemoto e Sakurai (1981) relataram que a IgM foi responsável pela atividade isoaglutinante. Os anticorpos anti-A em gatos com tipo sanguíneo B estão associados a títulos fortes de isoaglutininas e hemolíticos e são predominantemente da classe IgM (WILKERSON et al., 1991).

A destruição das ligações dissulfeto do IgM é realizada com tratamento com 2-Mercaptoetanol para remover a atividade do IgM do soro. Partes iguais de soro e 2-mercaptoetanol com PBS são incubados a 37°C por 1 hora para que a reação ocorra, e reduza os níveis de aloanticorpos na amostra devido à redução da IgM no plasma, reduzindo assim portanto os títulos de aloanticorpos na amostra. (ADLER; FRANK, 1965; BÜCHELER; GIGER, 1993).

A atividade da aglutinação em plasma felino pode ser removida depois da exposição ao 2-Mercaptoetanol (2-ME) e imunoprecipitação com anti-IgM, portanto a aglutinina em gatos tipo A e tipo B é predominantemente do tipo IgM. A atividade hemolítica foi encontrada em ambas as frações IgM e IgG depois da filtração em gel. Hemólise ainda pode ser observada após o tratamento em 2-ME e imunoprecipitação. Portanto, as hemolisinas consistem de ambos IgM e IgG, embora atividade hemolítica em gatos tipo B aparentemente seja principalmente pelo IgM (BÜCHELER; GIGER, 1993).

3- MATERIAL E MÉTODOS

3.1- APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi submetido à Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro e aprovado sob protocolo nº 92.

3.2- AMOSTRAGEM

Foram coletadas amostras sangüíneas de 100 gatos independentes de raça, sexo e idade em Campos dos Goytacazes, RJ. Os animais foram oriundos de: 1) atendimentos clínicos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF); 2) animais mantidos em gatis em diferentes locais da cidade; e 3) atendimentos pessoais. Todos os animais utilizados tiveram consentimento dos proprietários, e as amostras sangüíneas foram obtidas de acordo com bem-estar animal e princípios éticos. O sexo, idade, raça, exame físico, histórico e anamnese foram registrados.

3.3- COLETA E REALIZAÇÃO DO EXPERIMENTO

Para a realização do experimento e aprendizado de todas as técnicas, o treinamento nos laboratórios de Hematologia e Biologia Molecular no Centro de Ciências e Saúde (CCS) da Universidade Federal do Rio Janeiro (UFRJ) foi essencial para adquirir conhecimento teórico e prático, aprendendo as técnicas de tipagem sanguínea e titulações. Após o treinamento todos os experimentos foram realizados no setor de Patologia Clínica /Hospital Veterinário/UENF.

A coleta foi realizada por flebocentese cefálica e a amostra sanguínea (1,0 - 2.0 ml) armazenada em tubos contendo Etileno Diaminotetracético Tripotássico (EDTA K₃). As amostras sanguíneas foram transportadas em frasco (Vacuette®) e armazenadas a 4°C até que o tipo sanguíneo fosse executado como proposto por Bücheler e Giger (1993) no setor de Patologia Clínica/LCCA/ Hospital Veterinário/UENF.

3.4- PREPARO E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras armazenadas em tubo EDTA K₃ ao chegarem ao setor foram imediatamente centrifugadas por 5 minutos a $0,59 \times 10^4$ G (1500 RPM) para obtenção do precipitado das células sanguíneas. Foi retirado com uma pipeta semi-automática 100 µL da papa de hemácias do precipitado das amostras, sendo colocado este volume em tubo Falcon graduado de 15 mL.

Posteriormente foram realizadas as lavagens de hemácias adicionando 3 mL de tampão salino fosfato (PBS) a 0,9% com pH de 7.2 em cada tubo Falcon. As soluções foram homogeneizadas e colocadas em centrífuga a $0,59 \times 10^4$ G (1500

RPM) por 5 minutos iniciando a primeira lavagem de hemácias. Após a precipitação das células vermelhas na solução, foi removido o sobrenadante com pipeta Pasteur e adicionado mais 3 mL de PBS, e homogeneizado novamente. Este protocolo seguiu-se por mais duas vezes para completar as três lavagens das hemácias como sugerido por Knottenbelt et al. (1999b). A figura 3 apresenta a amostra de hemácias durante as lavagens.



Figura 3: A amostra durante as lavagens em solução em PBS a 0,9%, armazenadas em tubo graduado Falcon. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 18 de novembro, 2010.

Finalizando a terceira lavagem o sobrenadante foi totalmente retirado para se formar a suspensão de hemácias a 5% pelo protocolo descrito por Knottenbelt et al. (1999b). Juntamente aos 100 μ L de hemácias foi adicionado ao tubo Falcon 1,9 mL de PBS, somando assim 2 mL de solução, por sua vez formando a suspensão de hemácias a 5%, após a homogeneização.

3.5- TIPOS SANGÜÍNEOS E PROVA DE CONTRATIPAGEM POR AGLUTINAÇÃO

3.5.1- Tipagem sangüínea das amostras sangüíneas

O tipo sangüíneo B pode ser determinado usando uma solução de lectina de *Triticum vulgaris* como estabelecido por Griot-Wenk e colaboradores (1993). Esta lectina é uma aglutinina que induz a aglutinação preferencialmente de eritrócitos do sangue tipo B ou AB, reagindo com ácido acetilneurâmico (NeuAc) presente especificamente nestes eritrócitos que contenham o antígeno B.

No entanto, apesar do antisoro dos gatos tipo A não serem apropriados e seguros para determinar o tipo sangüíneo B como descrito por Arikan e Akkan (2004), isso pode ser ajustado quando se utiliza o antisoro de gatos tipo A, que são titulados e demonstrados que são capazes de promover hemaglutinação por conter anticorpos anti-B suficientes para promover esta reação às hemácias de gatos com tipo sangüíneo B quando verificados em microscopia óptica. Este método é comprovado por Bücheler e Giger (1993) e Knottenbelt et al. (1999a) quando relataram que alguns soros de gatos tipo A são capazes de aglutinar células vermelhas tipo B quando verificadas em nível microscópico. O tipo sangüíneo A pode ser determinado utilizando o antisoro de um felino tipo B que contenham aloanticorpos anti-A capaz de aglutinar hemácias que contenham o antígeno A.

Os plasmas que serviram como reagentes de trabalho e que foram preparados para a realização da tipagem sangüínea foram devidamente titulados para melhor contribuir com resultados dos testes. Para a utilização de um plasma anti-B (que contenham aloanticorpos anti-B) como reagente de trabalho foi utilizado aquele que apresentou maior título dentre as amostras selecionadas inicialmente (titulação 4) dos gatos com tipo sangüíneo A, desta forma sendo capaz de promover reações de aglutinação de hemácias que contenham antígeno B. Para a utilização de um plasma anti-A (que contenham aloanticorpos anti A) como reagente de trabalho foi selecionado aquele que apresentou titulação 64 dos gatos com tipo sangüíneo B, capaz de promover reações de aglutinação com hemácias que contenham antígeno A.

Foram utilizados dois tubos para realização da tipagem sangüínea, sendo estes para cada amostra sangüínea. Um tubo conteve um plasma anti-B de um gato tipo A conhecido e outro tubo conteve plasma anti-A de um gato tipo B conhecido. No tubo definido anti-B continha 25 µL de plasma anti-B capaz de aglutinar hemácias com antígeno B e no tubo definido como anti-A continha 25 µL de plasma anti-A capaz de aglutinar hemácias com antígeno A. Em cada um dos dois tubos foi adicionado 25 µL de suspensão de hemácias a 5% de cada felino para realização da tipagem sangüínea. Após o preparo da solução dos plasmas reagentes com a suspensão de hemácias de cada felino os tubos foram colocados em banho-maria a 37°C por 30 minutos, para evidenciar algum padrão de aglutinação. Os padrões de aglutinação nos tubos foram visualizados macroscopicamente e marcados em graus de aglutinação da seguinte forma: 0 (nenhuma aglutinação) a 4+ (forte aglutinação), de acordo com Bücheler e Giger (1993).

Aqueles que tiveram nenhuma aglutinação foram novamente centrifugados a $0,59 \times 10^4$ G por 30 segundos e visualizados em microscopia óptica em objetiva com aumento de 40 vezes, adicionando 20 µL da solução em lâmina de microscopia e lamínula, para assim confirmar se houve aglutinação como proposto por Bücheler e Giger (1993), principalmente da reação anti-B, na qual são incapazes de promover aglutinações suficientes de serem visualizadas macroscopicamente, onde possui baixos títulos de aloanticorpos quando comparado com os títulos do plasma anti-A.

Após a realização da tipagem sangüínea, todos os plasmas dos felinos avaliados, com os grupos sangüíneos identificados, foram separados e armazenados a -20 °C como de acordo com Gurkan et al. (2005) para posterior realização dos testes de contratipagem e titulação dos aloanticorpos.

3.5.2- Contratipagem dos plasmas armazenados

A prova cruzada foi um procedimento utilizado em todas as amostras para realização da confirmação das tipagens previamente realizadas. Portanto, foram utilizados todos os plasmas armazenados dos gatos tipados.

Esta contratipagem foi executada para cada amostra descrevendo os três tubos como A, B e controle. 25 µL de suspensão de hemácias a 5% de conhecido tipo A e B foram acrescentados a tubos 1 e 2, respectivamente. 25 µL de soro não diluído de cada gato foram adicionados e misturados suavemente nos dois tubos. O controle negativo foi obtido misturando os próprios eritrócitos do gato e seu soro. Foram observados resultados de hemaglutinação depois de 30 minutos de incubação a 37°C, para confirmação das tipagens sanguíneas.

Para a realização deste procedimento da prova cruzada, todos os plasmas foram convertidos em soro adicionando cálcio na concentração de 0.20 M no plasma e colocando o preparo em banho-maria a 56°C por 30 minutos. Posteriormente, os microtubos com os soros convertidos foram centrifugados a $0,59 \times 10^4$ G por 5 minutos para sedimentação da fibrina, para a separação do soro para realização das análises.

3.6- CONFIRMAÇÃO DA TIPAGEM COM A PROVA DA LECTINA (proteína aglutinina de *Triticum vulgaris*)

Os testes de aglutinação com a utilização da solução de lectina, para confirmação, foram executados em algumas amostras selecionadas randomizadamente em tubos atendendo as condições usadas pelos protocolos comerciais. Todas as alíquotas escolhidas com sangue total (25 µL) foram colocadas em tubos de vidro e misturadas com um volume da mesma proporção de solução de lectina *T.vulgaris* (100ug/ml) em tampão salino de fosfato (PBS), pH 7.2. Depois da incubação em banho-maria a 37°C durante 30 minutos, os tubos foram centrifugados a $0,59 \times 10^4$ G por 30 segundos e a aglutinação de eritrócitos foi registrada como

positiva (tipo B ou AB) ou negativa (tipo A) por inspeção visual depois de misturar suavemente a solução nos tubos. Desta forma, obteve a confirmação das tipagens anteriormente realizadas com aloanticorpos naturais selecionados como reagentes para tipagem. A utilização do sangue total foi com intuito de empregar a albumina plasmática para intensificar a aglutinação dos eritrócitos, reduzindo a repulsão entre estas células.

3.7- TITULAÇÕES DOS ALOANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B

A titulação foi realizada em microplaca de 96 poços, e foram utilizados os plasmas armazenados de conhecidos anti-B e anti-A e suspensões de hemácias a 5% de conhecidos sangues tipo A e tipo B.

Seguiu-se o protocolo realizado por Knottenbelt et al. (1999a) e foi realizada a titulação por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa dos plasmas anti-A e anti-B armazenados. Primeiramente, foi adicionado na primeira coluna 50 μ L de plasmas anti-A ou anti-B dos gatos nas fileiras correspondentes a cada amostra de plasma (fileira A a H). A partir da segunda coluna até a décima segunda coluna foi adicionado em todas as fileiras 25 μ L de tampão salino fosfato (PBS) a 0,9% com pH 7.2. Desta forma foram diluídos os plasmas, inicialmente retirando 25 μ L dos plasmas e transferindo para o poço seguinte à direita, e assim repetindo o procedimento transferindo 25 μ L para os poços seguintes, para formar as diluições dos plasmas ao PBS de 1:2 a 1:2048. Posteriormente, foi adicionada a cada fileira a suspensão de hemácias de determinado tipo sanguíneo, como suspensão de hemácias de um felino tipo B sendo adicionado em plasmas que contenham anti-B e suspensão de hemácias a 5% de um felino tipo A sendo adicionado em plasmas anti-A. O procedimento da titulação é representado de forma resumida na figura 4.

Após o preparo de todas as diluições para a titulação, a microplaca foi colocada em estufa de incubação à temperatura de 37°C por 30 minutos. A

microplaca depois foi acondicionada e refrigerada a 4°C, para assim reforçar a aglutinação, pois a atividade aglutinante é inversamente proporcional à temperatura como descrito por Bücheler e Giger (1993).

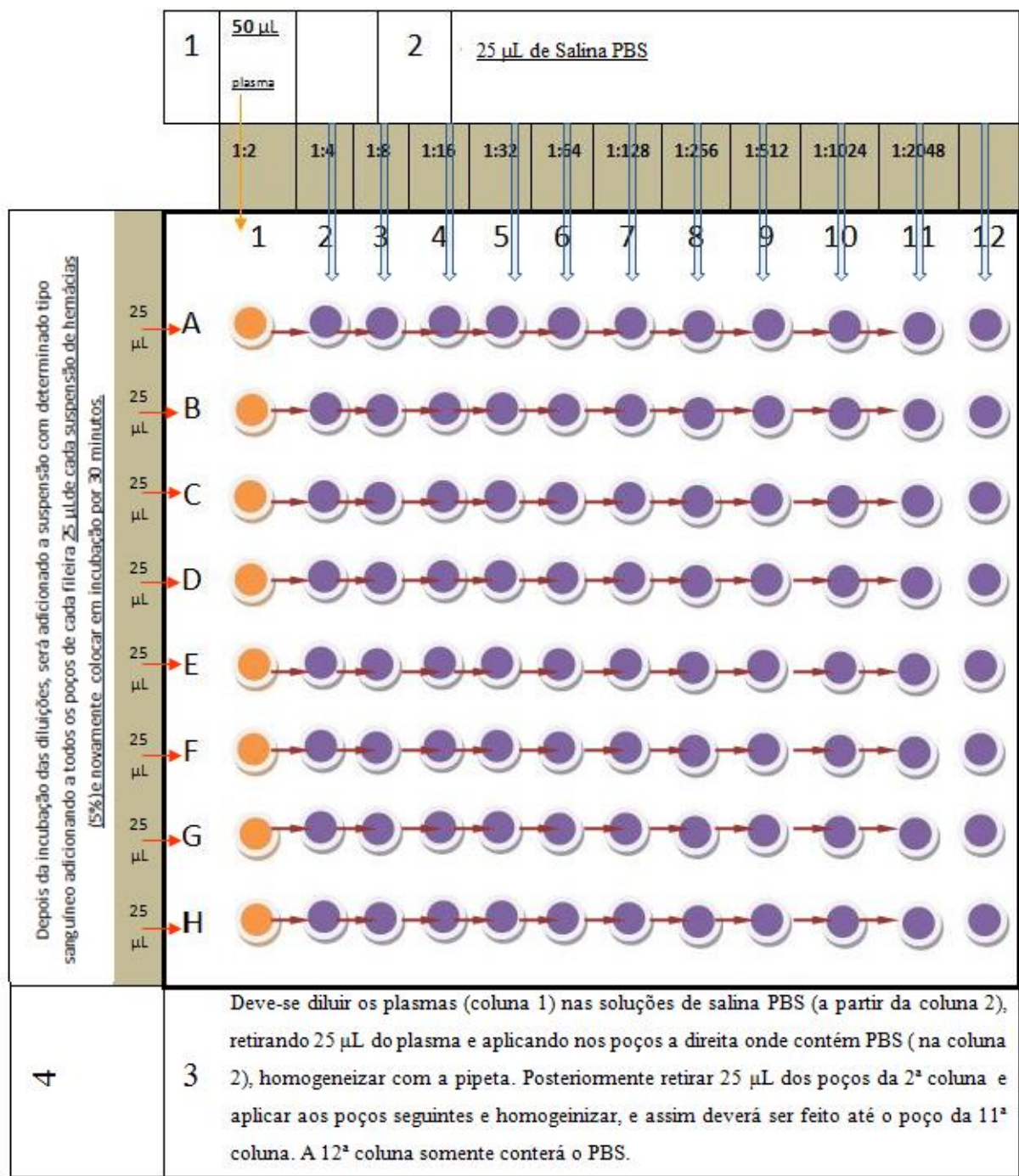


Figura 4: Resumo da titulação dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa nos plasmas dos felinos armazenados em microplaca. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 18 de fevereiro, 2011.

3.8- TITULAÇÕES DOS ALOANTICORPOS ANTI-A E ANTI-B SOB TRATAMENTO COM 2-MERCAPTOETANOL (2-ME)

As titulações dos aloanticorpos sob tratamento com 2-Mercaptoetanol (0,2 M) foram realizadas em microplaca com 96 poços. Primeiramente, foi adicionado na primeira coluna 50 μ L de plasmas anti-A ou anti-B dos gatos nas fileiras correspondentes a cada amostra de plasma. A partir da segunda coluna até a décima segunda coluna foi adicionado em todas as fileiras 25 μ L do reagente 2-Mercaptoetanol. Desta forma foram diluídos os plasmas, inicialmente retirando 25 μ L dos plasmas e transferindo para o poço seguinte à direita, e assim repetindo o procedimento transferindo 25 μ L para os poços seguintes, para formar as diluições dos plasmas ao 2-ME de 1:2 a 1:2048. Em seguida a microplaca foi mantida em estufa de incubação à temperatura de 37°C por 30 minutos. Resumidamente este protocolo pode ser verificado na figura 5.

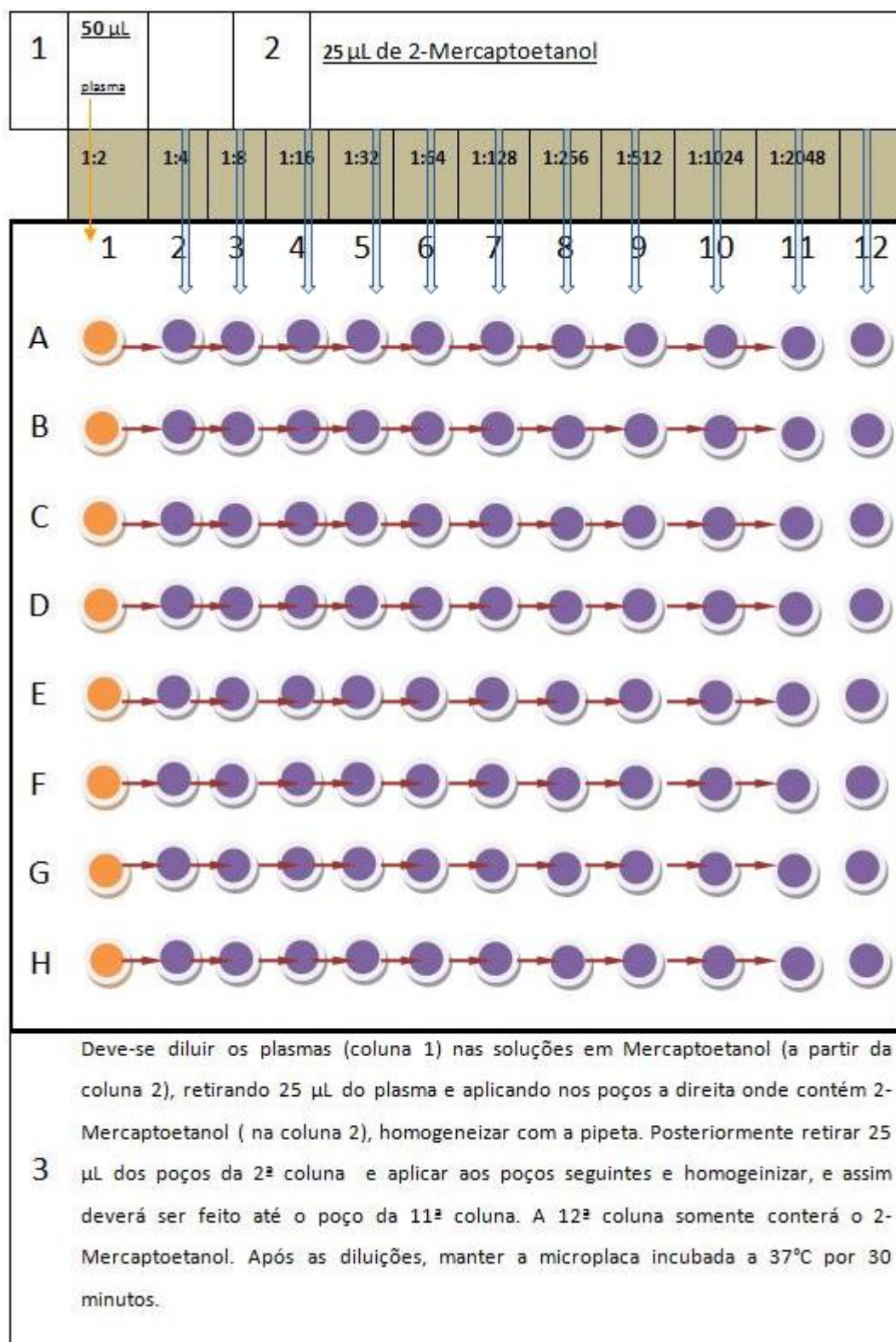


Figura 5: Resumo da titulação com 2-Mercaptoetanol dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa dos plasmas armazenados em microplaca. – Diluições dos plasmas em 2-Mercaptoetanol. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 18 de fevereiro, 2011.

Posteriormente, foi adicionado a cada fileira 25 µL suspensão de hemácias a 5% de determinado tipo sanguíneo (representado em cada fileira por letra da microplaca), como suspensão de hemácias de um felino tipo B sendo adicionado em plasmas que contenham anti-B e suspensão de hemácias de um felino tipo A sendo adicionado em plasmas anti-A. O procedimento completo da titulação em 2-ME é representado de forma resumida na figura 6.

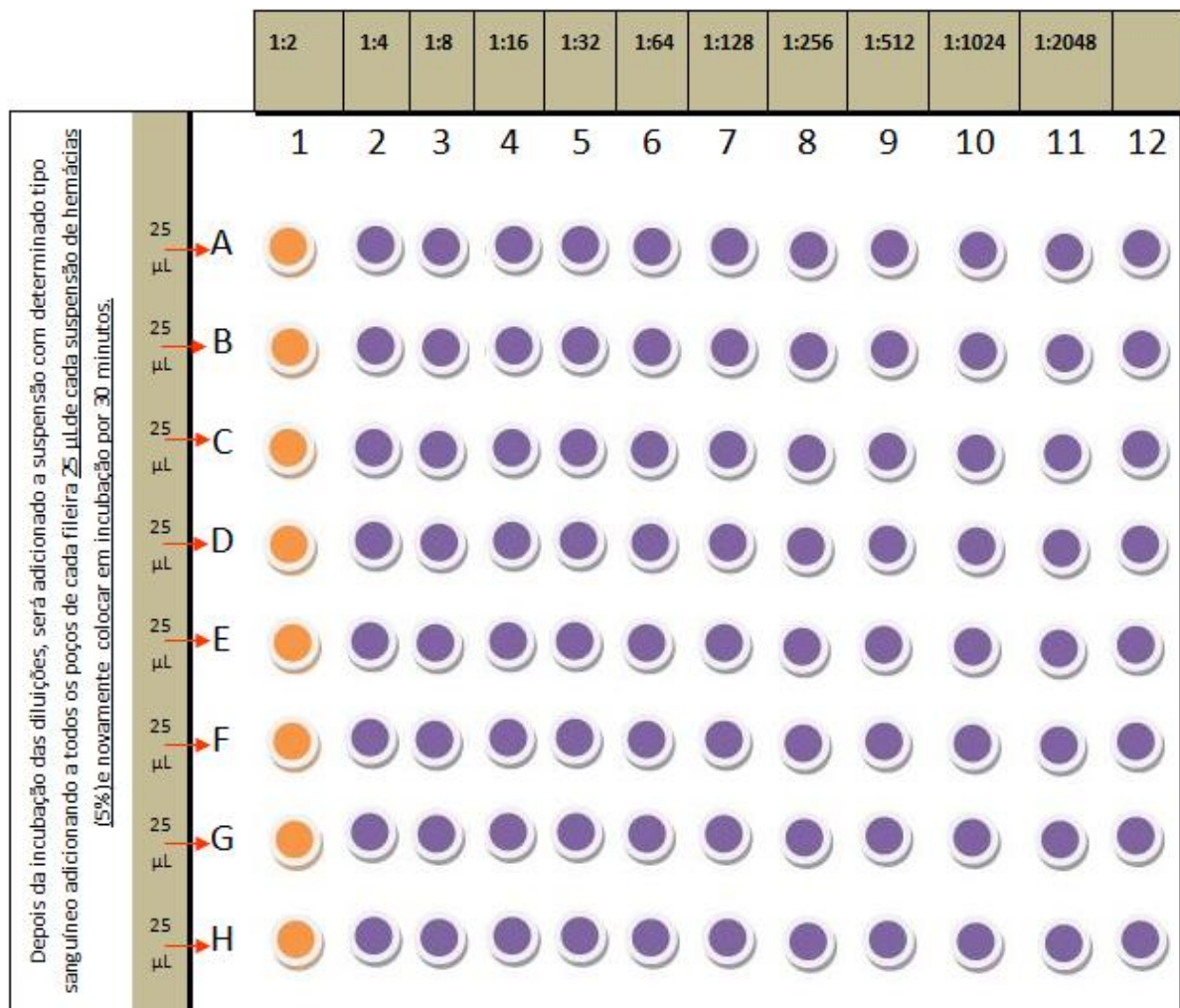


Figura 6: Resumo da titulação com 2-Mercaptoetanol dos aloanticorpos anti-A e anti-B por técnicas manuais de aglutinação direta quantitativa dos plasmas armazenados em microplaca. – Aplicação das suspensões de hemácias a 5%. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 18 de fevereiro, 2011.

3.9- ANÁLISES DOS DADOS OBTIDOS

Os dados foram tabelados e foi realizada estatística descritiva a fim de se obter principalmente a frequência dos tipos sanguíneos em percentuais, identificando dentro da amostra populacional a proporção existente entre os tipos sanguíneos. Também foi realizada a análise descritiva quantitativa e qualitativa dos dados de tipagem sanguínea, das provas de confirmação e das titulações de aloanticorpos dos plasmas armazenados.

Os cálculos estatísticos foram baseados nas leis de probabilidade de eventos independentes que usam a fórmula $P(A \cap B) = P(A) \cdot P(B)$ para determinar a probabilidade ou risco de ocorrer reação transfusional, na escolha aleatória do doador e receptor de sangue, baseado na determinação da frequência de tipos sanguíneos.

Os cálculos de probabilidade foram baseados no espaço amostral (Ω) dos 100 animais tipados na região de Campos dos Goytacazes, RJ. Os eventos elementares (E) foram divididos em 2 grupos: A (número de animais com tipo sanguíneo A) e B (número de animais com tipo sanguíneo B), como demonstrado abaixo.

$$\Omega = \{100 \text{ animais}\}; A = \{96 \text{ animais}\}; B = \{4 \text{ animais}\}$$

Os dados demonstram o risco de reação transfusional de um receptor com tipo sanguíneo tipo A receber sangue de algum gato com tipo sanguíneo tipo B dentro da amostra populacional. O cálculo da probabilidade de ocorrência de reações adversas secundárias a uma transfusão sanguínea aleatória foi feito a partir da multiplicação da percentagem de receptores pela percentagem de doadores incompatíveis.

Os dados obtidos de titulação foram tabulados em Excel (Microsoft Office 2007) para delineamento e separação dos grupos de números de animais em 2 variáveis, faixas etárias e títulos de aloanticorpos anti-B na diluição de 1:2, 1:4 e 1:8.

As faixas etárias foram divididas em três grupos: felinos jovens (idade inferior ou igual a 2 anos); adultos (idade superior a 2 anos e inferior ou igual a 6 anos de idade); idoso (idade superior a 6 anos). Posteriormente, foi realizado o teste não paramétrico Qui-quadrado de Pearson por independência ($p \leq 0,05$) para avaliar se os valores das titulações são independentes das faixas etárias citadas, desta forma, verificando se há alguma relação entre os títulos e as idades dos animais. Segue-se abaixo a fórmula para Qui-quadrado por independência.

$$\chi^2_c = \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^m (f_{o_{ij}} - f_{e_{ij}})^2 / f_{e_{ij}}$$

Sendo:

F_o= freqüência observada.

F_e= freqüência esperada.

4- RESULTADOS

Através do registro dos animais realizado durante a coleta das amostras sangüíneas materiais foram selecionados os sexos e as raças dos felinos. A amostra populacional foi constituída de 100 gatos domésticos, provenientes de todo município de Campos dos Goytacazes, tanto no atendimento particular quanto no atendimento no Hospital Veterinário da UENF. A proporção entre raças desconhecidas e raças conhecidas se encontra na figura 7. As proporções entre as raças conhecidas e as raças indeterminadas (ou seja, aquelas cujas raças são mestiças) se encontram na figura 8.

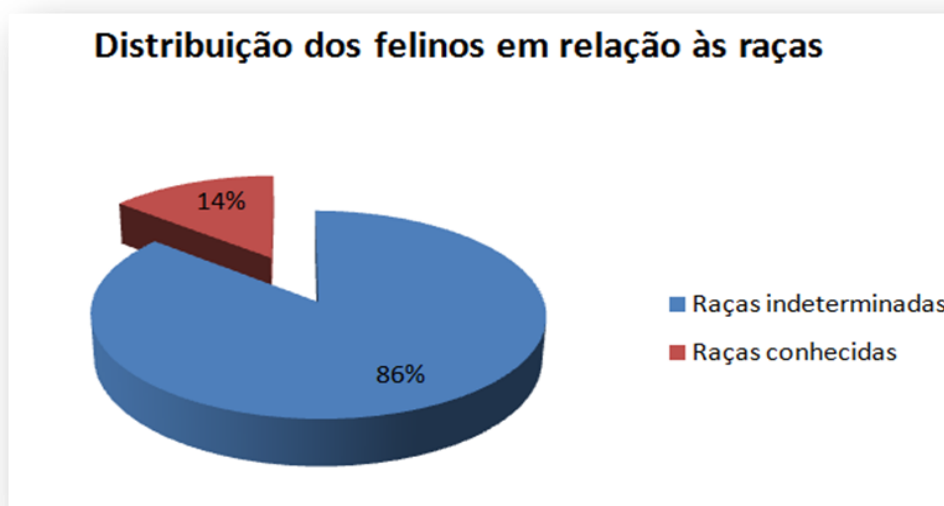


Figura 7: Distribuição das raças dos felinos na região de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

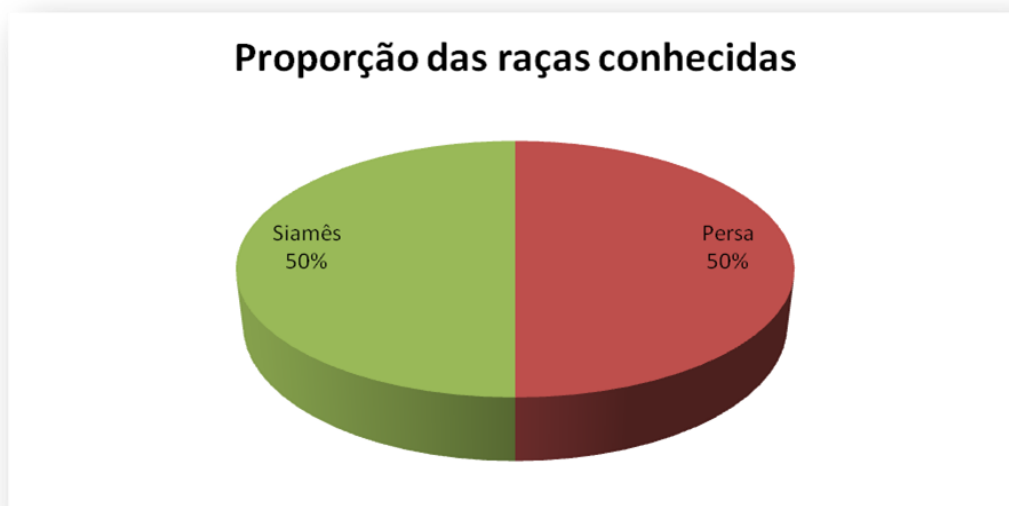


Figura 8: Proporção das raças puras conhecidas na região de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

Em relação aos sexos, dos 100 animais 53 eram fêmeas e 57 eram machos. A faixa etária dos animais pode ser dividida em 3 grupos: Felinos jovens (idade até 2 anos), Felinos adultos (idade maior que 2 anos e menor ou igual a 6 anos) e felinos idosos (idade superior a 6 anos de idade). As proporções de felinos jovens, felinos adultos e felinos idosos são verificadas na figura 9.

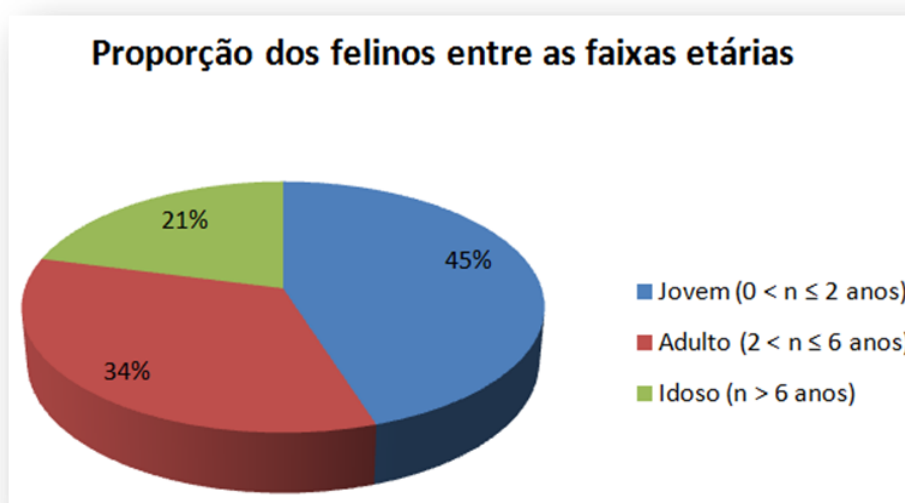


Figura 9: Proporção dos felinos domésticos entre as faixas etárias na região de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

A proporção da freqüência entre os grupos sangüíneos A, B e AB da amostra populacional se encontra na figura 10, na qual foi encontrado 96% (n=96) para o tipo sangüíneo A e 4% (n=4) para o tipo sangüíneo B. Não foi encontrado felino com tipo sangüíneo AB, portanto apresentando uma proporção de 0% entre a distribuição das freqüências dos tipos sangüíneos.

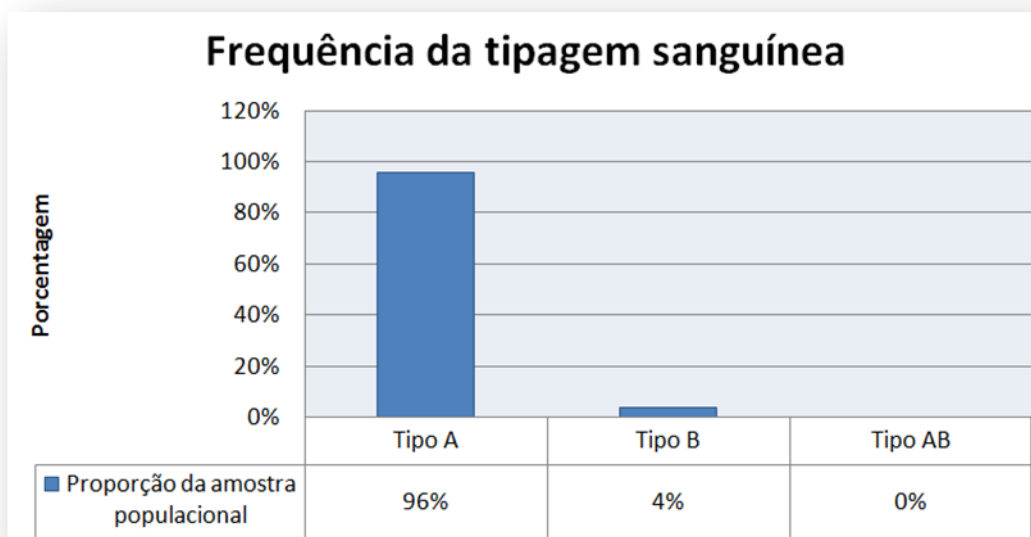


Figura 10: Distribuição das freqüências dos grupos sangüíneos da amostra populacional dos felinos domésticos (n=100) no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil.

A distribuição das freqüências dos grupos sangüíneos varia entre felinos de raça pura e de raça indeterminada (tanto felinos pêlo curto quanto pêlo longo). A tabela 1 consiste na distribuição da freqüência dos tipos sangüíneos na raça indeterminada, e entre as raças puras Persa e Siamês.

Tabela 1: Freqüência dos tipos sangüíneos dos felinos domésticos após a identificação dos antígenos eritrocitários.

Frequência dos grupos sangüíneos dos felinos domésticos			
Raça	Tipo sangüíneo A	Tipo sangüíneo B	Tipo sangüíneo AB
Indeterminada	98,8% (n=85)	1,2% (n=1)	0% (n=0)
Siamês	100% (n=7)	0% (n=0)	0% (n=0)
Persa	57,1% (n=4)	42,9% (n=3)	0% (n=0)

A tabela 2 demonstra a distribuição das freqüências dos tipos sangüíneos de raças indeterminadas do presente trabalho comparada a vários trabalhos no Brasil e em outros países.

Tabela 2: Distribuição das principais freqüências dos tipos sangüíneos de raças indeterminadas em todo mundo, e uma comparação com o estudo atual.

Localização	Referências	N	Freqüências dos tipos sangüíneos		
			Tipo A (%)	Tipo B(%)	Tipo AB (%)
Alemanha	Knottenbelt (2002)	600	94%	6%	0%
Áustria	Leidinger et al. (1993)	101	97%	3%	0%
Barcelona (Espanha)	Ruiz de Gopegui et al. (2004)	100	94%	4%	2%
Buenos Aires (Argentina)	Jacommet et al. (1997)	76	96,1%	2,6%	1,3%
Ilhas Canárias (Portugal)	Silvestre-Ferreira et al. (2004)	97	88,7%	7,2%	4,1%
Copenhagen (Dinamarca)	Jensen et al. (1994)	105	98,1%	1,9%	0%
Escócia	Giger et al. (1992)	70	97%	3%	0%
Estados Unidos (Total)	Giger et al.(1991)	3785	98,1%	1,7%	0,1%
	Nordeste	1450	99,7%	0,3%	0%
	Centro-Norte e Montanhas Rochosas	506	99,4%	0,4%	0,2%
	Sudeste	534	98,5%	1,5%	0%
	Sudoeste	483	97,5%	2,5%	0%
	Costa Oeste	812	94,8%	4,7%	0,5%
Finlândia	Giger et al. (1992)	61	100%	0%	0%
França	Eyquem et al. (1962)	350	85%	15%	0%
Grécia	Mylonakis et al. (2001)	207	78,3%	20,3%	1,4%
Holanda	Giger et al. (1992)	103	96%	4%	0%
Hungria	Bagdi et al. (2001)	<100	100%	0%	0%
Itália	Continanza et al. (1992)	363	87%	13%	0%
Portugal (Norte)	Silvestre-Ferreira et al. (2004)	159	89,3%	4,4%	6,3%
Reino Unido	Kottenbelt et al. (1999)	125	87,1%	7,9%	5,0%
Sidney (Austrália)	Malik et al. (2005)	187	62,0%	36,0%	1,6%
Suíça	Hubler et al. (1993)	1014	99,6%	0,4%	0%
Tóquio (Japão)	Ikemoto et al. (1981)	207	90,0%	10,0%	0%
Turquia	Arikan et al. (2006)	301	73,1%	24,6%	2,3%
Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil)	Lacerda et al. (2008)	100	97%	3%	0%
Rio (Rio de Janeiro, Brasil)	Medeiros et al. (2008)	172	94,8%	2,9%	2,3%
Campos dos Goytacazes (Rio de Janeiro, Brasil)	Presente Estudo	86	98,8%	1,2%	0%

Em relação às raças puras específicas avaliadas, foram estudadas 2 raças específicas, a raça Persa e a raça Siamês. Em relação às raças puras Persa e

Siamês, as freqüências dos tipos sangüíneos no atual trabalho e de outros tabalhos no Brasil e em outros países se encontram nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3: Distribuição das freqüências dos tipos sangüíneos da raça Persa nas principais áreas do mundo, e uma comparação com o presente estudo

Localização	Referências	N	Freqüências dos tipos sangüíneos		
			Tipo A	Tipo B	Tipo AB
Alemanha	Knottenbelt et al. (2002)	25	84,0%	16%	0%
Copenhagen (Dinamarca)	Jensen et al. (1994)	56	98,1%	1,9%	0%
Estados Unidos	Giger et al. (1991)	230	86,5%	13,5%	0%
Itália	Knottenbelt et al. (2002)	38	97,4%	2,6%	0%
Japão	Ejima et al. (1986)	11	72,7%	0%	18,2%
Portugal (Norte)	Silvestre-Ferreira et al. (2004)	7	85,7%	0%	14,3%
Reino Unido	Knottenbelt et al. (1999)	17	88,2%	11,8%	0%
Sidney (Austrália)	Malik et al. (2005)	9	67%	22%	11%
Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil)	Guerra et al. (2007)	18	100%	0%	0%
Campos dos Goytacazes (Rio de Janeiro, Brasil)	Presente estudo	7	57,1%	42,9%	0%

Tabela 4: Distribuição das freqüências dos tipos sangüíneos da raça Siamês nas principais áreas do mundo, e uma comparação com o presente estudo.

Localização	Referências	N	Freqüências dos tipos sangüíneos		
			Tipo A	Tipo B	Tipo AB
Copenhagen (Dinamarca)	Jensen et al. (1994)	3	100%	0%	0%
Estados Unidos	Knottenbelt et al. (2002)	99	100%	0%	0%
Portugal (Norte)	Silvestre-Ferreira et al. (2004)	19	100%	0%	0%
Reino Unido	Knottenbelt et al. (1999)	4	100%	0%	0%
Sidney (Austrália)	Malik et al. (2005)	12	100%	0%	0%
Porto Alegre (Rio Grande do Sul, Brasil)	Guerra et al. (2007)	17	100%	0%	0%
Campos dos Goytacazes (Rio de Janeiro)	Presente estudo	7	100%	0%	0%

A figura 11 mostra a verificação das aglutinações de hemácias em microscopia óptica na tipagem sangüínea, demonstrando a determinação de um tipo sangüíneo A e tipo sangüíneo B. A reação de aglutinação do anti-A para determinar as hemácias com antígeno A é forte, apresentando, portanto grandes aglutinações de hemácias, aglutinações estas que podem ser verificadas também na macroscopia. No entanto, a reação de aglutinação do anti-B para determinar

hemácias com antígeno B é fraca, desta forma as aglutinações das hemácias são menores e somente são visualizadas em microscopia óptica.

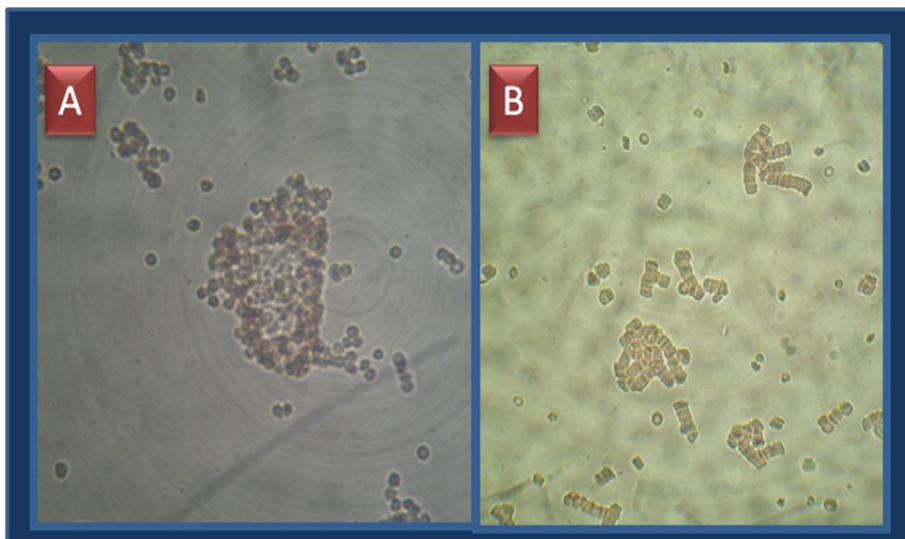


Figura 11: Determinação dos tipos sanguíneos em microscopia óptica (400 X) por aglutinação de hemácias: A) Aglutinação de hemácias com antígeno A pelo plasma reagente anti-A; B) Aglutinação de hemácias com antígeno B pelo plasma reagente anti-B. %. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 14 de outubro, 2010.

Todos os plasmas sanguíneos armazenados dos gatos tipados foram aplicados à contra-prova da tipagem sanguínea, também conhecida como contratipagem. Todos os felinos, exceto um, que apresentaram tipo sanguíneo A (n=96), no teste de contratipagem os seus plasmas (n=95), em que continham aloanticorpos anti-B, foram capazes de aglutinar hemácias na suspensão a 5% em PBS de um tipo sanguíneo B conhecido quando verificados na microscopia óptica, possibilitando a confirmação que estes animais possuem aloanticorpos anti-B, confirmando serem felinos com tipo sanguíneo A. Da mesma forma os plasmas que apresentaram tipo sanguíneo B (n=4) foram capazes de aglutinar hemácias na suspensão a 5% no PBS de um tipo sanguíneo A conhecido, verificados macroscopicamente, confirmando que estes plasmas contêm aloanticorpos anti-A e são do tipo sanguíneo B. Estes resultados de tipagem e contratipagem podem ser verificados na figura 12 e no anexo 1.

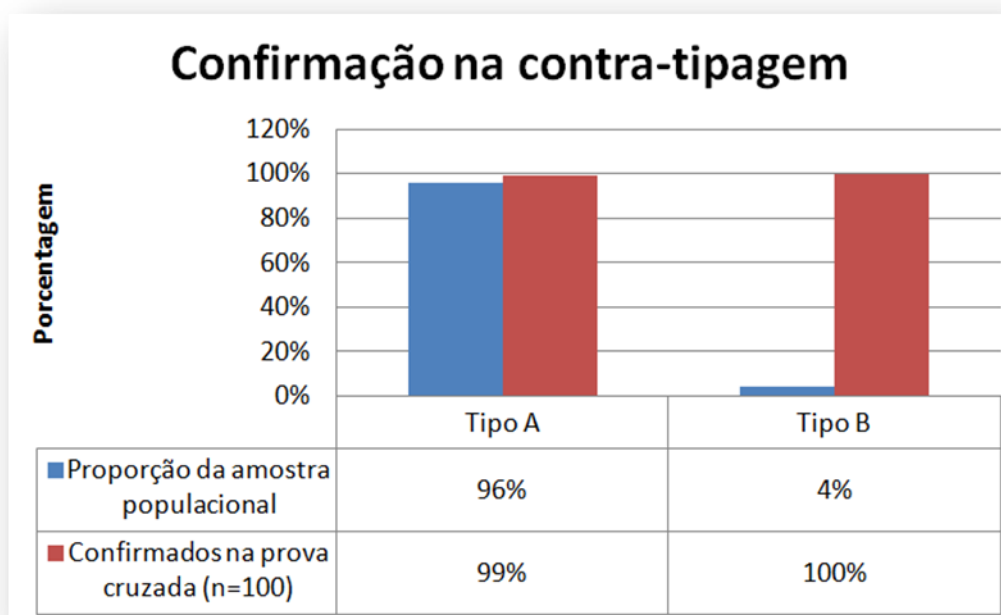


Figura 12: Confirmação da contratipagem através dos plasmas armazenados dos felinos tipados.

A contratipagem também serviu de auxílio para um teste simples realizado perante um grupo de felinos previamente tipados, na qual o plasma de cada animal foi colocado à prova para suspensão de hemácias de cada felino do mesmo grupo. Desta forma, pôde-se confirmar que realmente estes animais possuem os tipos sanguíneos através da determinação de seus aloanticorpos. Na tipagem sanguínea os felinos enumerados 67 e 68 foram considerados como tipo sanguíneo B, desta forma quando seus plasmas foram adicionados às suas próprias suspensões de hemácias, não houve nenhuma aglutinação, macroscopicamente e microscopicamente, portanto estes plasmas não possuem aloanticorpos anti-B, no entanto quando estes foram adicionados às suspensões de hemácias dos animais determinados na tipagem sanguínea como tipo sanguíneo A, foram verificadas aglutinações de hemácias, em nível macroscópico e microscópico, demonstrando que realmente possuem aloanticorpos anti-A. Da mesma forma, os felinos enumerados 2 e 3 determinados na tipagem sanguínea como tipos sanguíneos A, foram colocados na mesma prova, e quando seus plasmas foram adicionados às suspensões de hemácias dos gatos com tipo sanguíneo B do grupo, estes foram capazes de aglutinar hemácias, visto somente em nível microscópico, possuindo, portanto aloanticorpos anti-B em seus plasmas, porém ao cruzar seus plasmas com

suas respectivas suspensões, estes não foram capazes de aglutinar, confirmando desta vez que não possuem aloanticorpos anti-A. Resumidamente isso pode ser verificado na tabela 5. Os nomes dos gatos enumerados e suas tipagens podem ser verificados no anexo 1.

Tabela 5: Confirmação da tipagem sangüínea por contratipagem de grupo de felinos com tipo sangüíneo A e B.

Plasmas	Suspensão de hemácias a 5%			
	Nº 67	Nº 68	Nº 2	Nº 3
	Hemácias Tipo sangüíneo B	Hemácias Tipo sangüíneo B	Hemácias Tipo sangüíneo A	Hemácias Tipo sangüíneo A
Nº 67	-	-	+	+
Nº 68	-	-	+	+
Nº 2	+	+	-	-
Nº 3	+	+	-	-

Obs.: Nº - Número

“-“ (negativo para aglutinação)

“+” (positivo para aglutinação)

Outra forma de confirmação da tipagem sangüínea foi através da prova da lectina (*Triticum vulgaris*) dos sangues dos gatos tipados. Foram utilizadas todas as amostras de sangue dos gatos definidos como tipo sangüíneo B na tipagem sangüínea e foram escolhidos de forma randomizada três gatos definidos como tipos sangüíneos A (animais enumerados como 49, 50 e 24). Os sangues dos gatos definidos como tipo sangüíneo B (enumerados como 16, 46, 67 e 68) foram aplicados à prova na solução de lectina, onde todos estes sangues foram aglutinados após a incubação a 37°C, definindo, portanto que estes realmente possuem antígeno eritrocitário B, ou seja, a presença de ácidos siálicos N-acetilneurâmico. Já os sangues dos felinos definidos como tipo sangüíneo A ao serem incubados juntamente a solução de lectina não foi verificada nenhuma aglutinação, determinado que não possuem antígeno eritrocitário B, concluindo que estes felinos possuem apenas antígeno eritrocitário A, ou seja o ácido siálico N-Glicolineurâmico, desta forma confirmando que estes felinos são realmente tipos sangüíneos A. A figura 13 apresenta as fotos das aglutinações dos felinos com tipo sangüíneo B e a não aglutinação do tipo sangüíneo A. Estes resultados podem ser

verificados na tabela 5. Os nomes dos gatos enumerados e suas tipagens podem ser verificados no anexo 1.

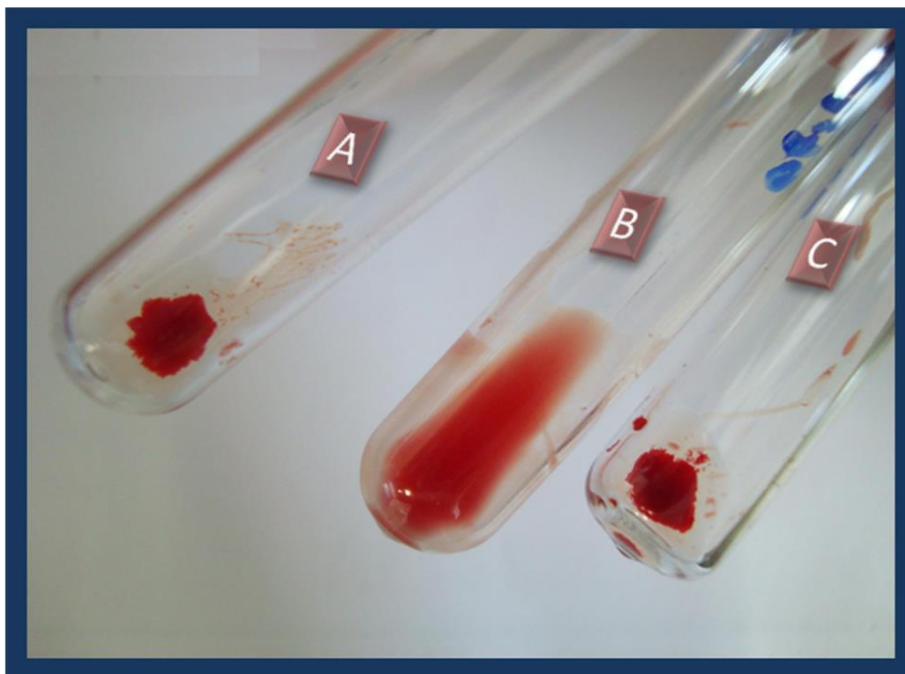


Figura 13: Aglutinações “in vitro” de hemácias através da solução de lectina: A) Aglutinação de hemácias do gato com tipo sanguíneo B, número 67; B) Não aglutinação de hemácias do gato com tipo sanguíneo A, número 50; C) Aglutinação de hemácias do gato com tipo sanguíneo B, número 68. Fonte: %. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, Laboratório de Hematologia e Biologia Molecular / Centro de Ciências Humanas / UFRJ / 26 de janeiro, 2011.

Tabela 6: Confirmação da tipagem sanguínea com a prova da Lectina.

Testes	Sangue Total						
	Nº 67	Nº 68	Nº 46	Nº 18	Nº 49	Nº 50	Nº 24
Tipagem sanguínea	Tipo B	Tipo B	Tipo B	Tipo B	Tipo A	Tipo A	Tipo A
Prova da lectina	+	+	+	+	-	-	-

Obs.: Nº - Número

“-“ (negativo para aglutinação)

“+“ (positivo para aglutinação)

A tabela 6 apresenta a probabilidade randomizada de ambos os gatos tipo A e tipo B receberem sangue incompatível através da transfusão sanguínea, determinando, portanto o risco de reação transfusional total dentro da amostra populacional selecionada neste presente estudo.

Tabela 7: Risco de reação adversa transfusional na escolha randomizada de receptores e doadores na amostra populacional de Campos dos Goytacazes, RJ.

Tipos de probabilidade de reações transfusionais	Cálculos de probabilidade	Risco total de reação transfusional
Probabilidade total de ocorrer alguma reação transfusional na região.	$96/100 \times 4/100 = 0.96 \times 0.04$	3.84%

Foram testadas as amostras de plasmas de 96 animais com tipo sanguíneo A para titulação de aloanticorpos anti-B. Os dados de titulação para estes aloanticorpos se encontram na figura 14.

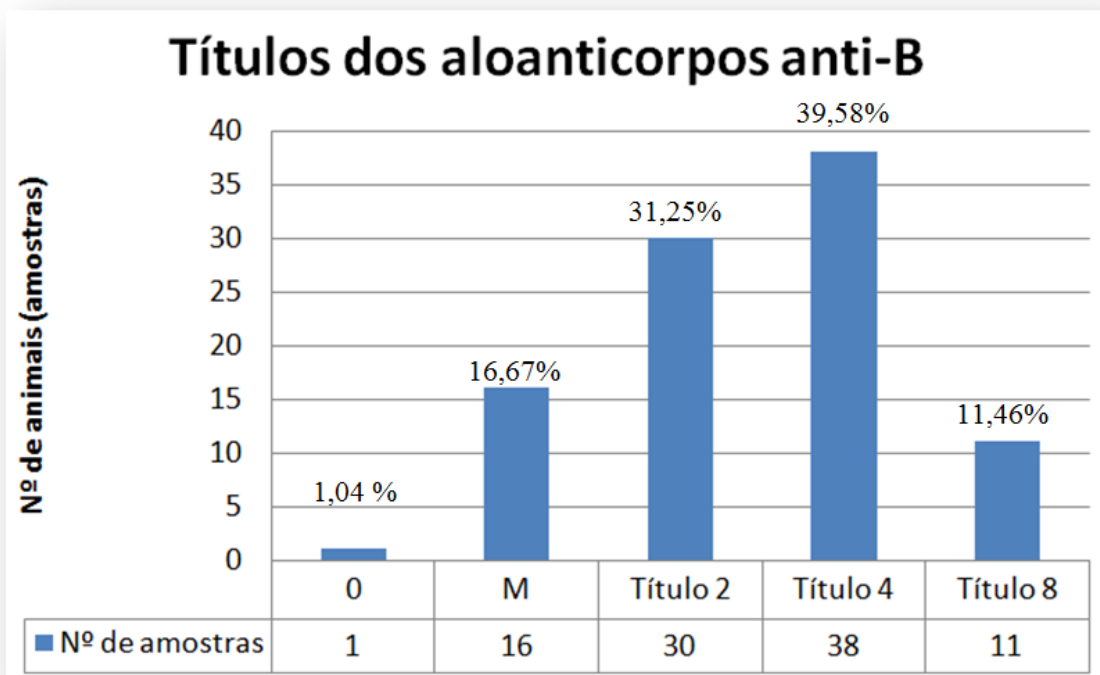


Figura 14: Gráfico representando o número e as proporções de amostras de plasmas para cada título de aloanticorpos anti-B.

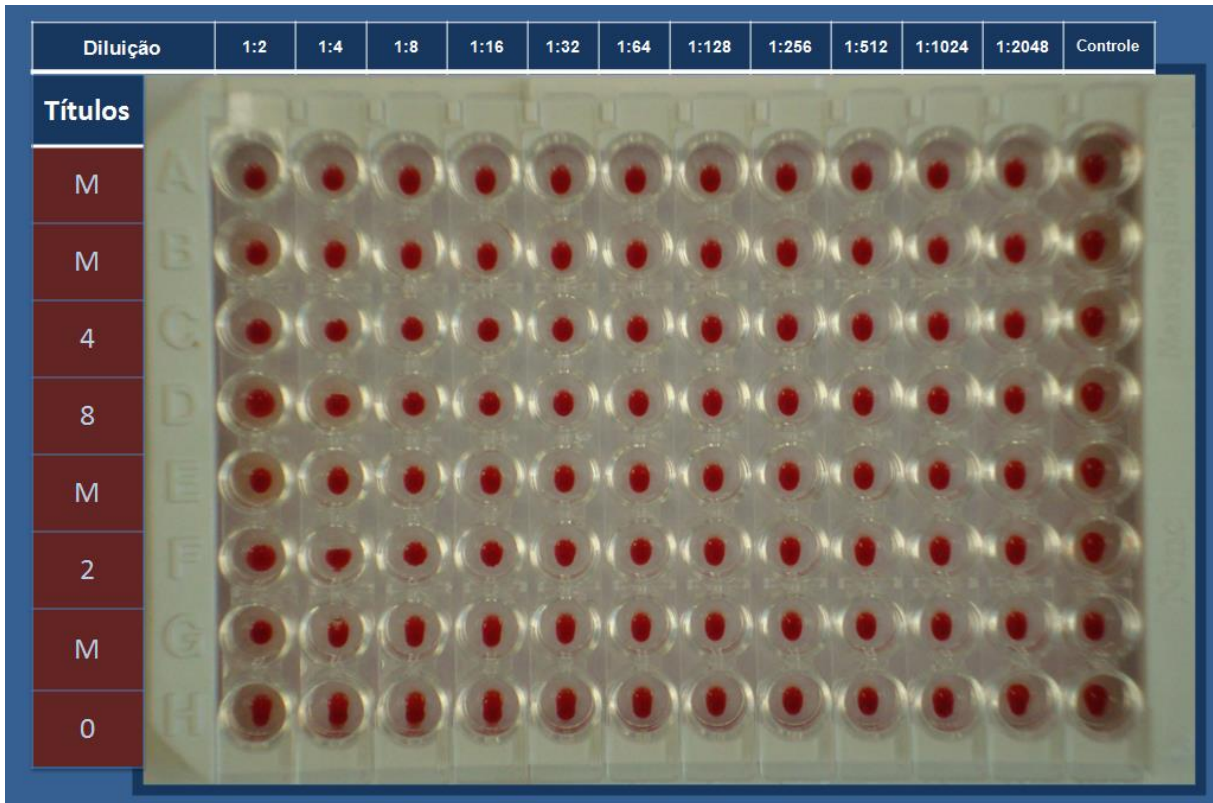
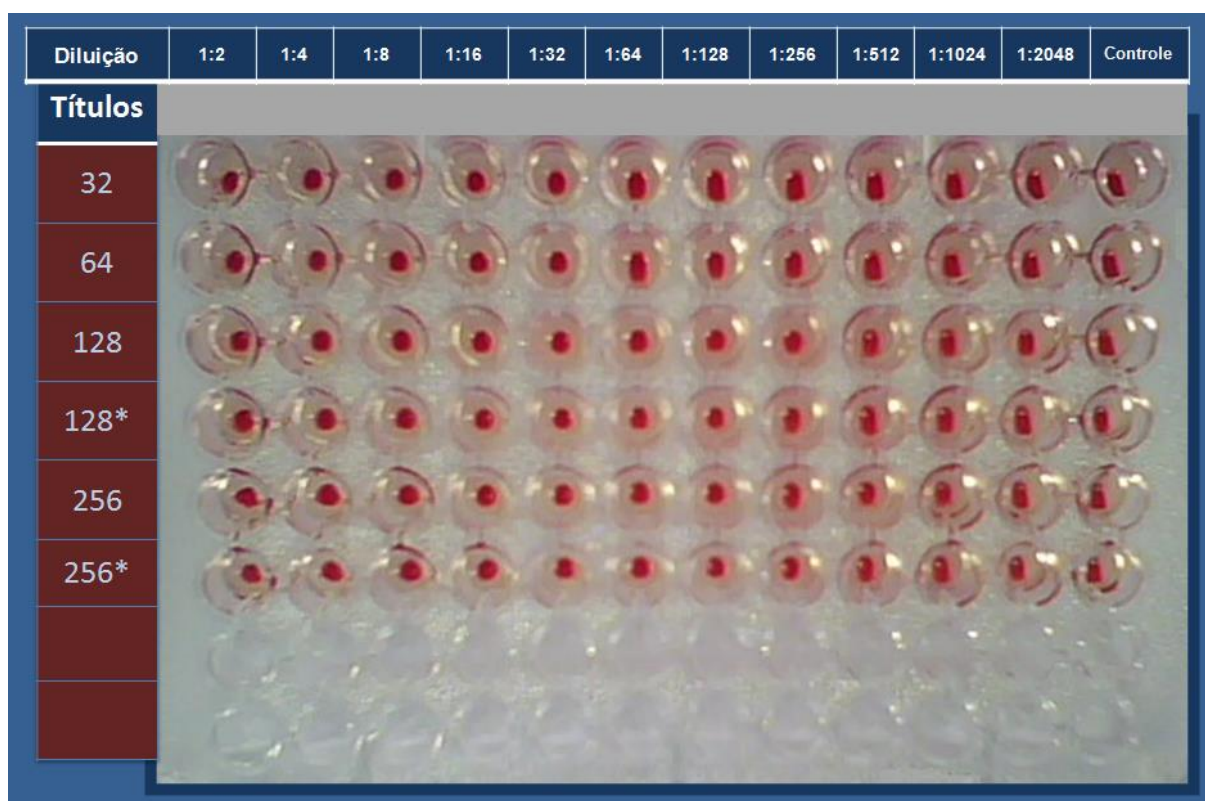


Figura 15: Titulação em diluições em PBS realizada em microplaca de 96 poços de plasmas com aloanticorpos anti-B, todas as titulações conferidas em microscopia óptica. Os títulos para cada plasma se encontram na barra ao lado da foto. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 05 de fevereiro, 2011.

A titulação de aloanticorpos anti-A foi obtida dos plasmas dos 4 gatos tipo B. Todos os gatos tipo B evidenciaram fortes aglutinações pelos aloanticorpos anti-A, com títulos variando de 32 a 256. Cada amostra de plasma destes felinos apresentou um título diferente dos outros plasmas com anti-A. Portanto, 1 amostra de plasma (25%) apresentou aglutinação na diluição 1:32, outra amostra de plasma (25%) apresentou aglutinação na diluição 1:64, outra amostra (25%) na diluição 1:128 e outra (25%) na diluição 1:256. Apesar de os títulos serem apenas obtidos na visualização microscópica, a grande quantidade de aloanticorpos anti-A nestes plasmas permite a visualização macroscópica das aglutinações em variados graus de diluições, como pode ser visualizada na microplaca na figura 16, onde pode ser vista a não sedimentação de hemácias nas primeiras diluições da maioria dos plasmas, caracterizando a aglutinação nestes poços.



Obs.: * (Duplicata das diluições dos plasmas anteriores)

Figura 16: Titulação em diluições em PBS realizada em microplaca de 96 poços de todos os plasmas com aloanticorpos anti-A, todas as titulações conferidas em microscopia óptica. Nesta há visualização de aglutinações em variados graus de diluições. Os títulos para cada plasma se encontram na barra ao lado da foto. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 05 de fevereiro, 2011.

A titulação das amostras de plasmas anti-B realizada em diluições em 2-ME não evidenciou nenhum título em todos os plasmas dos felinos com tipo sanguíneo A, portanto todos os plasmas anti-B tiveram títulos nulos, por não evidenciar aglutinações nas diluições. Entende-se então que a capacidade aglutinante dos anticorpos destes plasmas seja proveniente praticamente de anticorpos da classe IgM. A figura 17 demonstra a titulação dos plasmas com aloanticorpos anti-B nas diluições realizadas em 2-ME.

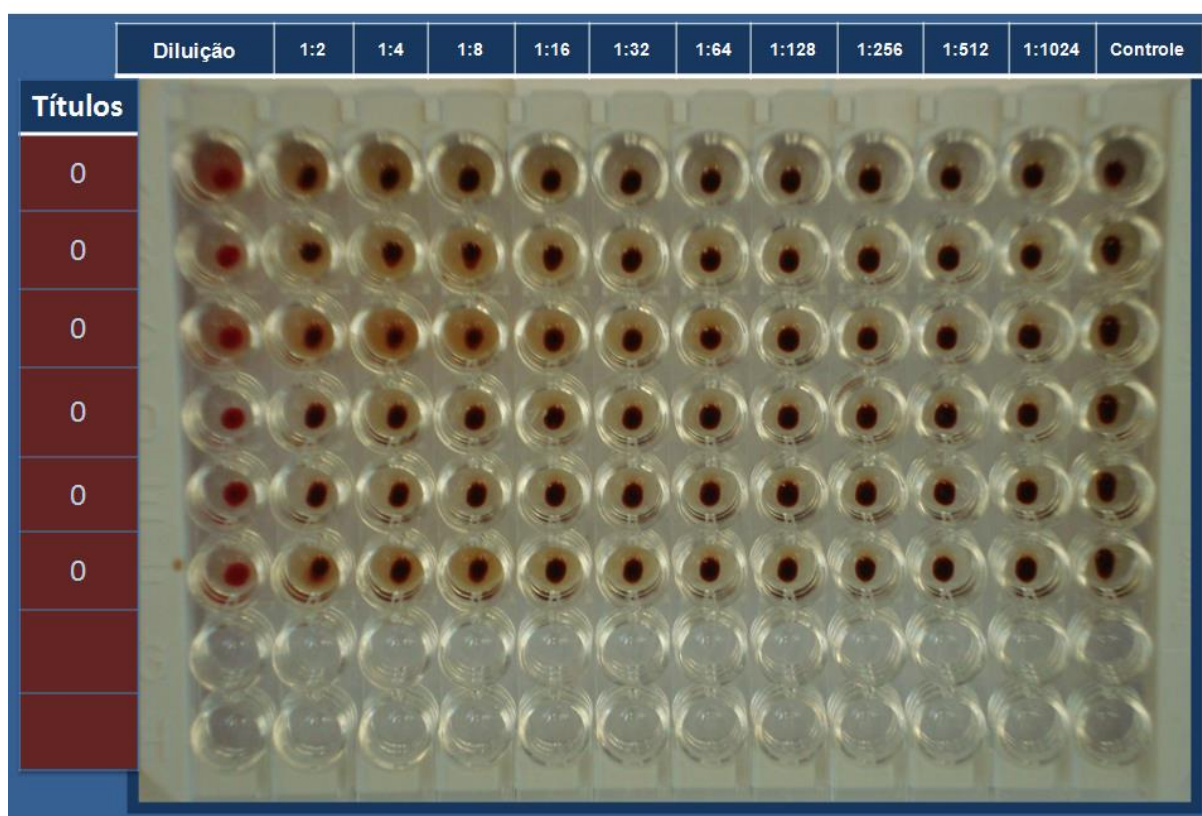


Figura 17: Titulação realizada em microplaca de 96 poços de plasmas com aloanticorpos anti-B em diluições ao 2-ME, todas as titulações conferidas em microscopia óptica. Os títulos para cada plasma se encontram na barra ao lado da foto Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 05 de fevereiro, 2011.

Na titulação dos plasmas com aloanticorpos anti-A em diluições ao 2-ME evidenciou-se aglutinações, diferentemente dos plasmas com aloanticorpos anti-B. No entanto, as aglutinações puderam ser somente verificadas em microscopia óptica. O plasma apresentou titulação 64 na diluição em tampão salino fosfato (PBS), na titulação em 2-ME houve aglutinação até a diluição 1:8, definindo sua titulação 8. O plasma que apresentou titulação 32 em diluições em PBS apresentou na titulação em 2-ME aglutinação na diluição 1:2, possuindo título 2. O plasma que apresentou títulos na diluição em PBS em 1:128, nas diluições em 2-ME, este apresentou título 32. E o plasma que apresentou títulos em PBS de 264, nas diluições em 2-ME, este apresentou também título de 32. Portanto, todos os plasmas que continham anti-A ainda tiveram capacidade de aglutinar mesmo com a inativação de anticorpos da classe IgM, no entanto com titulações menores e também concluindo que há nestas amostras capacidade aglutinante pela classe IgG. A figura 18 apresenta as titulações de plasmas anti-A em diluições em 2-ME.

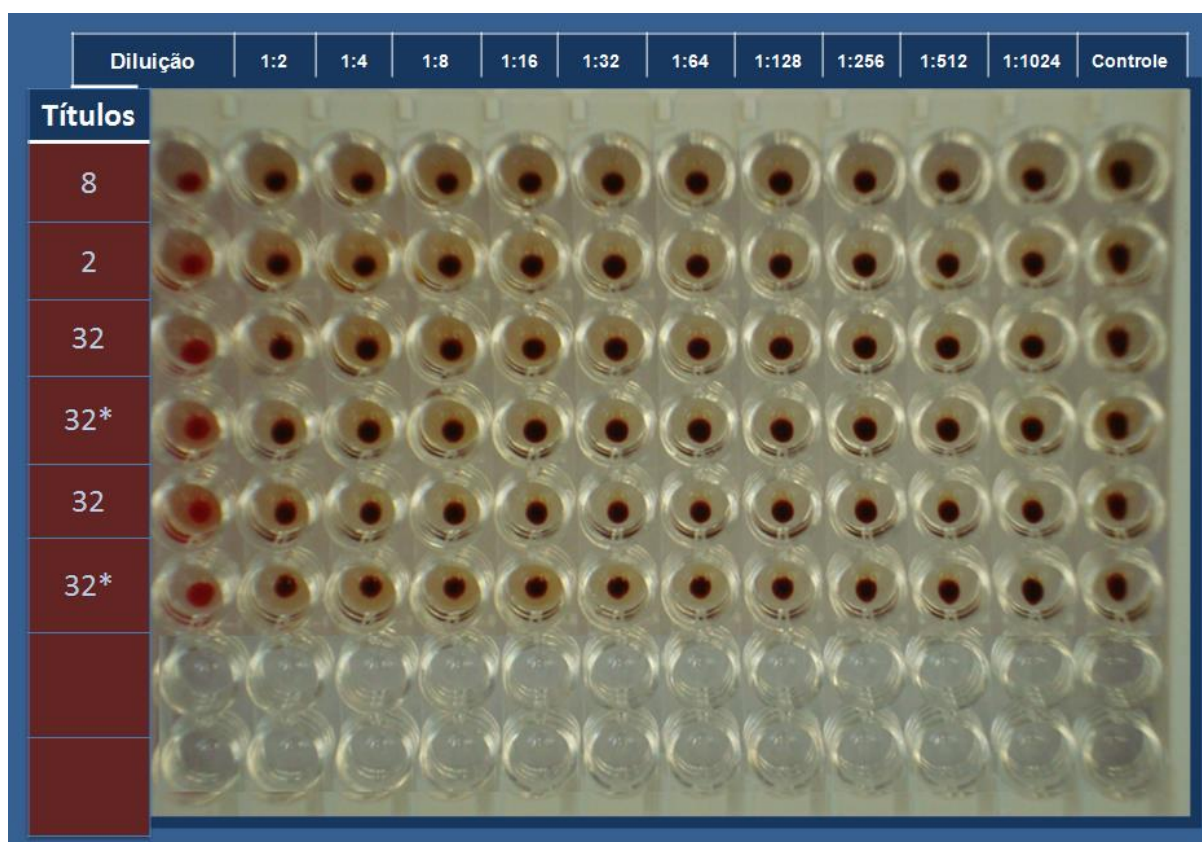


Figura 18: Titulação em diluições em 2-ME realizada em microplaca de 96 poços de todos os plasmas com aloanticorpos anti-A, todas as titulações conferidas em microscopia óptica. Os títulos para cada plasma se encontram na barra ao lado da foto. Fonte: Pinto, Anderson Barros Teixeira, setor de Patologia clínica veterinária// LCCA/Hospital Veterinário/UENF/ 05 de fevereiro, 2011.

Os resultados de Qui-quadrado de Pearson demonstram que os valores dos títulos (variável y_i) ocorrem de forma independente da variável faixa etária (x_i), ou seja, demonstrando que os títulos não diminuíram ou aumentaram de acordo com o avançar da idade. A tabela 8 apresenta os números de felinos e relacionados de acordo com as duas variáveis (título e faixa etária) e o valor do qui-quadrado calculado (χ^2_c) encontrado comparado com o Qui-quadrado tabelado (χ^2_t) na probabilidade de 5% de significância, demonstrando que não se rejeita a hipótese de que as variáveis ocorrem de forma independente.

Tabela 8: Números de animais relacionados entre as variáveis títulos de aloanticorpos anti-B e faixa etária, e os cálculos de qui-quadrado.

Número de animais Faixa etária (x_i)	Títulos de aloanticorpos anti-B (y_i)			χ^2_c	χ^2_t
	2	4	8		
Jovens ($0 < n \leq 2$ anos)	23	19	2	6,65	11,14
Adultos ($2 < n \leq 6$ anos)	15	10	7		
Idosos ($n > 6$ anos)	7	10	3		

5- DISCUSSÃO

A tipagem sangüínea em felinos domésticos é de suma importância na prática clínica para prevenir reações hemolíticas transfusionais agudas, isoeritrólise neonatal e sensibilização por incompatibilidade sangüínea. Esta tem sido realizada em raças domésticas mestiças e puras pelo mundo inteiro, mas não em países da América do Sul. No Rio de Janeiro, a conduta para realização das transfusões sangüíneas tem sido baseada somente em testes de compatibilidade sangüínea (MEDEIROS et al., 2008) . Todavia, os testes de compatibilidade do doador e do receptor não previnem completamente o risco de transfundir sangües incompatíveis, pois alguns animais possuem títulos significantes de aloanticorpos de ocorrência natural (WEINGART et al., 2004).

A importância deste estudo se deve à precariedade de informações nas regiões do país, sendo uma pesquisa de suma importância na clínica médica veterinária devido ao crescente número de felinos portadores do tipo B sangüíneo, portanto sendo necessária a diferenciação de indivíduos tipo sangüíneo A, do tipo sangüíneo B e do AB para que possa ser feito um tratamento hemoterápico (HOHENHAUS, 2004; LACERDA et al., 2008). Portanto, a presença de indivíduos com tipo sangüíneo B e AB mostra a necessidade de tipagem em maior número de animais para que se tenha um cadastro destes, caso venham a necessitar de transfusão sangüínea ou na seleção de reprodutores, além de tornar a tipagem sangüínea parte da rotina clínica médica felina quando necessitar de transfusão sangüínea.

Apesar de existirem métodos rápidos de tipagem sangüínea como o “card test”, estes testes são caros para a prática clínica. Muitos trabalhos evidenciam o auxílio da solução de lectina e anticorpos anti-A para a tipagem sangüínea, mesmo consumindo tempo, mas é seguro quando aplicado com reagentes preparados apropriadamente (MEDEIROS et al., 2008).

No presente trabalho foi utilizado plasma sangüíneo com aloanticorpos anti-A de um felino tipo B como reagente para determinar felinos com tipo sangüíneo A e plasma sangüíneo com aloanticorpos anti-B para determinar felinos com tipo sangüíneo B. Contudo, apesar do antisoro dos gatos tipo A não serem apropriados e seguros para determinar o tipo sangüíneo B como descrito por Arikan e Akkan

(2004), isso pode ser ajustado quando se utiliza os antisoros de gatos tipo A que são titulados e demonstrados capazes de promover hemaglutinação por conter anticorpos anti-B suficientes para estimular esta reação às hemácias de gatos com tipo sanguíneo B quando verificados em microscopia óptica. Este método é comprovado por Bücheler e Giger (1993) e Knottenbelt et al. (1999a) quando relataram que alguns soros de gatos tipo A são capazes de aglutinar células vermelhas tipo B quando verificadas em nível microscópico. De fato, o uso do teste da lectina foi essencial nos testes comprobatórios da tipagem sanguínea, quando foi escolhido randomizadamente alguns animais com tipo sanguíneo A e todos felinos com tipo sanguíneo B para confirmação.

No presente estudo a distribuição da frequência total na amostra populacional ficou em 96% dos felinos sendo do tipo sanguíneo A e 4% dos felinos sendo do tipo sanguíneo B, não havendo nenhuma frequência para o tipo sanguíneo AB. Em relação às raças indeterminadas ou mestiças tanto em felinos de pêlo curto quanto pêlo longo, a distribuição da frequência na cidade foi de 98,8% em felinos com tipo sanguíneo A e 1,2% em felinos do tipo sanguíneo B, não havendo frequência em felinos com o tipo sanguíneo AB. Estes dados são compatíveis com estudos prévios principalmente em relação à frequência do tipo sanguíneo A em gatos mestiços onde em outros países encontrou-se elevada, encontrando frequências superiores a 90% neste tipo sanguíneo (BAGDI et al.; 2001; GIGER et al., 1991; GIGER et al.; 1992; HUBLER et al. 1993; IKEMOTO; SAKURAI, 1981; JACOMET et al., 1997; JENSEN et al., 1994; KNOTTENBELT; 2002; LACERDA et al., 2008; LEIDINGER et al.; 1993; MEDEIROS et al., 2008; RUIZ DE COPEGUI et al., 2004).

Em felinos mestiços percebe-se que a frequência de gatos com tipo sanguíneo A se assemelha a todas as frequências em quase todos os outros países, assim como trabalhos realizados no Brasil. A frequência dos felinos com tipos sanguíneos B também se assemelha com trabalhos de outros países, onde na maioria estes determinaram frequências com tipo sanguíneo B menores que 10%. Neste presente trabalho não foi encontrado nenhum felino tipo AB, determinando, portanto uma frequência de 0%, contudo muitos países e locais não determinaram também alguma prevalência ou frequência no tipo sanguíneo AB, porém alguns países apresentam frequências um pouco maior que 0%. A frequência de felinos pertencentes ao grupo sanguíneo B foi relativamente baixa, pois encontrar felinos

com este tipo sangüíneo é raro, o que é consistente com o que tem sido observado nestes animais em outras regiões do mundo (JENSEN et al., 1994; MEDEIROS et al., 2008). Entretanto, como relatado por Silvestre-Ferreira et al. (2004a), Giger et al. (1991a) e Giger et al. (1992a) os tipos sangüíneos de felinos variam entre distribuições geográficas e entre raças em diferentes países, por isso que o resultado para a freqüência de tipo B no presente estudo assemelha-se a alguns estudos prévios, mas também não está de acordo com outros estudos. Contudo, estudos em outros países da Europa mostraram que a prevalência de populações de felinos mestiços variam de 3 a 14,9% (CONTINENZA et al., 1992; EYQUEM et al., 1962; GIGER et al., 1992^a; KNOTTENBELT et al., 1999b).

A freqüência no presente estudo para felino mestiço tipo B assemelha-se com resultados de Jensen et al. (1994) e Giger et al. (1991), que apresentaram freqüências de 1,9% e 1,7% na Dinamarca e Estados Unidos, respectivamente. Outros trabalhos relatam freqüências que variam de 2,5% a 36% em outros países, demonstrando a variância geográfica encontrada na distribuição da freqüência para este grupo sangüíneo. Em trabalhos realizados no Japão, Itália, França, Grécia Turquia e Austrália as prevalências foram diferentes às encontradas no atual trabalho, pois variavam de 10% a 36% (ARIKAN et al., 2001; CONTINENZA et al.; 1992; EYQUEM et al., 2001; IKEMOTO; SAKURAI, 1981; MALIK et al., 2005; MYLONAKIS et al., 2001), mas que não são compatíveis com a maioria dos trabalhos.

Não foi encontrado felino doméstico do grupo sangüíneo AB dentro da distribuição de felinos de raça mestiça, portanto a freqüência para este tipo sangüíneo foi 0%. Corroborando com outros trabalhos que também não evidenciaram, na população de felinos, animais com este tipo sangüíneo. No Brasil, na cidade de Porto Alegre do estado do Rio Grande do Sul, Lacerda et al. (2008) também não encontraram este tipo sangüíneo em felinos mestiços. Assim como em outros países não foram relatados felinos com este tipo sangüíneo como Alemanha, Áustria, Dinamarca, Escócia, Finlândia, França, Holanda, Hungria, Itália, Suíça e Japão (BAGDI et al., 2001; CONTINANZA et al., 2002; EYQUEM et al., 1992; GIGER et al., 1992; HUBLER et al., 1993; KNOTTENBELT, 2002; LEIDINGER et al., 1993; IKEMOTO et al., 1981; JENSEN et al., 1994). Os Estados Unidos apresentam freqüência relativamente baixa de 0,1%, e outros que variam até 2% como na Espanha, Argentina, Grécia e Austrália (GIGER et al., 1991; JACOMET et al., 1997;

MYLONAKIS et al., 2001; MALIK et al., 2005; RUIZ DE COPEGUI et al., 2004). Na cidade do Rio de Janeiro foi encontrada uma freqüência de 2,3%, freqüência também encontrada na Turquia. No norte de Portugal e nas Ilhas Canárias foram encontradas freqüências de 6,3% e 4,1%, respectivamente (SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004a; SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004b). E no Reino Unido foi encontrado freqüência de 5,0% (KNOTTENBELT et al., 1999b).

A presença e prevalência de felinos com tipo sangüíneo AB em determinadas populações se deve principalmente aos desvios genéticos aleatórios, resultando em um aumento na freqüência do alelo AB, ou cruzamentos com raças que apresentam altas prevalências de gatos tipo AB como descrito por Knottenbelt et al. (1999) e Silvestre-Ferreira et al. (2004). Contudo não se pode confirmar que isto ocorre na região por não se ter encontrado dentro da amostra populacional algum felino com tipo sangüíneo AB na cidade de Campos dos Goytacazes.

A ausência do tipo sangüíneo AB, em contraste com a alta freqüência relativa de gatos com tipo sangüíneo B, suporta a sugestão que gatos com tipo sangüíneo AB não resultam de cruzamentos típicos de A X B, mas propriamente é o resultado de um terceiro alelo que possibilita a expressão co-dominante dos antígenos eritrocitários A e B (ANDREWS et al., 1992; ARIKAN; AKKAN, 2004; GRIOT-WENK et al., 1996).

Em relação às freqüências dos felinos da raça Persa a distribuição neste presente trabalho dos tipos sangüíneos é diferente quando comparado com as raças indeterminadas. A freqüência do tipo sangüíneo B nesta raça costuma ser alta como verificado neste trabalho e outros. Apesar das distribuições da freqüência deste tipo sangüíneo serem diferentes neste trabalho e em outros, a presença de animais desta raça com este tipo sangüíneo não é raro. Neste presente trabalho não foi encontrado nenhum felino desta raça com tipo sangüíneo AB, no entanto alguns estudos relatam esta presença. Porém, as freqüências do tipo sangüíneo A em todos os estudos são maiores que as freqüências do tipo sangüíneo B.

Dentre os gatos persas foi encontrado nesse trabalho uma freqüência de 57,1% de gatos com tipo sangüíneo A e 42,9% de felinos com tipo sangüíneo B. Estes valores se aproximam do trabalho realizado por Malik et al. (2005) na Austrália, que verificaram uma distribuição da freqüência do tipo sangüíneo A e B de 67% e 22%, respectivamente. No entanto, os outros trabalhos relatam freqüências maiores do tipo sangüíneo A, que variavam de valores superiores de 80% a 100%

(GIGER et al., 1991; GUERRA et al., 2007; JENSEN et al., 1994; KNOTTENBELT et al., 1999b; KNOTTENBELT et al., 2002; SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004a).

A frequência de felinos na raça Persa com tipo sanguíneo B encontrada no atual trabalho não é semelhante ao encontrado em outros relatos na literatura, pois este possui valor superior. No entanto, sabe-se que a discrepância existente do tipo sanguíneo B pode ser devido ao baixo número de felinos desta raça estudados (JENSEN et al., 1994). As diferenças entre as frequências de felinos com tipo sanguíneo B se deve ao fato que há variações geográficas marcantes na prevalência do tipo sanguíneo B em gatos Persas, como verificado em vários estudos realizados nesta raça na Europa (CONTINENZA et al., 1992; GIGER et al., 1991b; KNOTTENBELT et al., 1999b; VON HAARER; GRUNBAUM, 1990), portanto estes achados suportam a teoria de que as prevalências dos tipos sanguíneos podem apresentar variações geográficas marcantes em raças específicas (KNOTTENBELT et al., 1999b).

Não foi encontrado nenhum tipo sanguíneo AB entre os gatos persas semelhante a muitos outros trabalhos (KNOTTENBELT et al., 2002; GIGER et al., 1991; GUERRA et al., 2007; JENSEN et al., 1994; KNOTTENBELT et al., 1999b). Entretanto, altas frequências neste tipo sanguíneo foram encontradas em alguns trabalhos realizados no Japão, Portugal e Sidney (Austrália), com frequências de 18,2%, 14,3% e 11%, respectivamente (EJIMA et al., 1986; MAILIK et al., 2005; SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004a), onde tais frequências possivelmente estão presentes e aumentadas devido aos cruzamentos de felinos da mesma raça que possuem prevalência neste tipo sanguíneo AB ou reflete no desvio genético randomizado que resulta em um aumento na frequência do alelo AB (KNOTTENBELT et al., 1999; SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004a).

De acordo com o presente trabalho, assim como os demais trabalhos, todos os gatos orientais siameses foram do tipo sanguíneo A. Sendo assim, possuindo uma frequência de tipo sanguíneo A de 100%. Não é relatado nesta raça o tipo sanguíneo B ou AB. Estes dados se confirmam com outros autores que também somente encontraram este tipo sanguíneo para esta raça (GUERRA et al., 2007; JENSEN et al., 1994; KNOTTENBELT et al., 1999; MALIK et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 2002; SILVESTRE-FERREIRA et al., 2004a). Os gatos Siameses e Orientais são invariáveis para o tipo sanguíneo A como reportado em

estudos prévios (GIGER et al., 1991; KNOTTENBELT et al., 1999; MALIK et al., 2005).

Um dos principais testes de confirmação realizados neste trabalho foi o teste de contratipagem realizado em todos os plasmas armazenados de acordo com o método descrito por Giger et al. (1989) e Bücheler e Giger (1993). Portanto, foi realizada a contratipagem de 96 plasmas de felinos com tipo sangüíneo A e 4 plasmas de felinos que são do tipo sangüíneo B. Neste estudo, de todos os 96 plasmas dos felinos com tipo sangüíneo A apenas um (1,04%) não foi capaz de promover aglutinação a hemácias de um sangue tipo B conhecido quando visualizado em nível microscópico, em contraste com trabalho realizado por Bücheler e Giger (1993) nos Estados Unidos onde relataram que todos os plasmas de felinos tipo A aglutinaram hemácias tipo B quando visualizadas em nível microscópico. No entanto, um trabalho realizado por Arikán e Akkan (2004) relatou que 6 plasmas dos felinos tipo A (20%) de 33 plasmas de felinos tipo A não foram capazes de promover aglutinação em hemácias tipo B quando visualizado em nível microscópico. Kottenbelt et al. (1999b) relataram que 17 plasmas (27,9%) de felinos tipo A de 61 não foram capazes de promover a aglutinação a hemácias tipo B. Contudo, os trabalhos relatam que a maioria dos plasmas de felinos tipo A é capaz de promover aglutinação a hemácias de um sangue tipo B (ARIKAN et al., 2005; ARIKAN; AKKAN, 2004; KNOTTENBELT et al., 1999b).

Na contratipagem, os 4 plasmas dos felinos identificados como tipo sangüíneo B também foram colocados à prova com hemácias de um sangue tipo A conhecido, e todos foram capazes de promover aglutinações até mesmo significativas em nível macroscópico, sendo assim fortes aglutinações. O achado em que todos os gatos tipo B possuem anticorpos anti-A hemaglutinantes está de acordo com estudos prévios (ARIKAN; AKKAN, 2004; AUER; BELL, 1981; BÜCHELER; GIGER, 1993; GIGER et al., 1989; GIGER; BÜCHELER, 1991; KNOTTENBELT et al., 1999b). Trabalhos realizados anteriormente relataram que todas as amostras de plasmas de felinos tipo B foram capazes de promover aglutinações fortes visualizados em nível macroscópico (ARIKAN et al., 2004; ARIKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999b).

Outro teste de confirmação utilizado no presente trabalho foi com auxílio da lectina de *Triticum vulgare* que se liga especificamente ao terminal ácido siálico N-Acetilneurâmico (NeuAc) de glicolípídios de membrana de eritrócitos de células tipo

B (ANDREWS et al., 1992; BUTLER et al., 1991; GRIOT-WENK et al., 1993; KNOTTENBELT et al., 1999a; MALIK et al., 2005; MEDEIROS et al., 2008). Portanto, devido a esta especificidade, por aglutinar células tipo B, este teste foi utilizado para confirmar alguns resultados obtidos na tipagem sanguínea. Todos os sangues dos felinos tipo B identificados pela reação do plasma reagente anti-B microscopicamente foram aglutinados ao serem adicionados à lectina. A lectina é uma aglutinina capaz de promover aglutinações visíveis em nível macroscópico em sangues de felinos tipo B (KNOTTENBELT et al., 1999; MEDEIROS et al., 2008). Desta forma, houve a confirmação de que estes felinos são do tipo sanguíneo B. Algumas amostras de sangue de felinos tipo A, determinados por um plasma reagente anti-A, escolhidos aleatoriamente não foram capazes de promover aglutinação por não conter o antígeno B, definido pelo ácido NeuAc. Estes, no entanto possuem como terminal o ácido N-Glicolilneurâmico (ANDREWS et al., 1992; MALIK et al., 2005), que por sua vez não são aglutinados quando expostos à lectina. Portanto, a confirmação de que estes felinos são do tipo A é apresentada quando este não é aglutinado à lectina.

A transfusão de sangue de receptores com tipo sanguíneo A para um felino tipo B tem um potencial de resultar em uma reação transfusional de 3,84% em uma transfusão randomizada. Este resultado de probabilidade é semelhante ao encontrado por Medeiros et al. (2008), onde encontraram uma probabilidade de um tipo A receber um sangue tipo B em uma primeira transfusão randomizada de 2,25% e de receber um tipo AB que foi de 2,20%. Marques (2010) determinou que a probabilidade total de ocorrência de reações transfusionais adversas secundárias à incompatibilidade do sistema AB, em uma primeira transfusão sanguínea aleatória é de 4,35%, apesar de determinar que a probabilidade de ocorrer reação transfusional como consequência da transfusão randomizada de felinos tipo A recebendo sangue tipo B é de 1,98%. Isto se deve ao fato de ter encontrado dentro da amostra populacional felinos com tipo sanguíneo AB, na qual foram adicionados na probabilidade de risco de reação transfusional total, por isso houve o aumento no risco.

Todos os plasmas armazenados foram titulados para avaliar as titulações existentes nos plasmas que contêm aloanticorpos anti-B e nos plasmas que contêm aloanticorpos anti-A, de felinos tipo A e B, respectivamente. Desta forma, por meio

da obtenção destes resultados foi possível evidenciar as proporções dos títulos de aloanticorpos existentes na amostra populacional.

Em relação aos títulos encontrados de anti-B em 96 animais foram encontradas 31,25% de amostras de plasmas apresentando título 2 semelhante ao encontrado por Knottenbelt et al. (1999a) no Reino Unido, onde em 61 plasmas de felinos tipo A, encontraram uma proporção de 27,9% contendo título 2 e também bem semelhante ao encontrado por Gurkan et al. (2005) na Turquia no trabalho realizado com felinos mestiços, onde em 227 plasmas de felinos tipo A foram encontrados 31,3% contendo título 2. Apesar da proporção de plasmas com título 2 ser menor que estes trabalhos e no presente estudo, Arikan e Akkan (2004) encontraram uma proporção de 24,24% em 33 plasmas na Turquia.

Dentre os plasmas de felinos tipo A, no presente trabalho a proporção de plasmas contendo título 4 foi a maior, sendo de 39,58%, assim como trabalhos realizados por Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005), onde encontraram uma proporção de 27,27% e 34,4%, respectivamente, porém Knottenbelt et al. (1999a) encontraram uma proporção menor que os plasmas com título 2, no caso uma proporção de 11,47%. Nos plasmas dos felinos tipo A no presente trabalho foi encontrado uma proporção de 11,46% com título 8. No entanto, trabalhos realizados por Knottenbelt et al. (1999b), Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) observaram proporção menor de amostras com título 8 quando comparados com o atual trabalho, compreendidos em 3,19%, 6,06% e 4,0%, respectivamente. Foram encontradas em algumas amostras fracas aglutinações na diluição 1:2, sendo assim considerada aglutinação microscópica (M), em que 16,67% das amostras de plasmas apresentaram estas fracas aglutinações. Resultados semelhantes foram encontrados por Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005), que encontraram proporções de plasmas com título "M" de 18,18% e 17,6%, respectivamente, em felinos tipo A na Turquia.

Apenas um plasma de um felino tipo A (1,04%) no presente trabalho não foi capaz de promover aglutinação (título 0), como foi descrito nos resultados de contratipagem, estando de acordo com trabalhos prévios (ARIKAN e AKKAN, 2004; GURKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999a). Em contraste, Giger e Bücheler (1993) mostraram que todos os plasmas de gatos tipo A nos Estados Unidos foram capazes de aglutinar hemácias tipo B quando verificados em nível microscópico. Trabalhos realizados por Knottenbelt et al. (1999a), Arikan et al.

(2004) e Gurkan et al. (2005) citam proporções de animais apresentando título 0 muito maiores que os encontrados por nós, com proporções de 27,9%, 21,2% e 12,3%, respectivamente.

Isto comprova que amostras de plasmas de felinos tipo A podem apresentar incapacidade de reação de aglutinação quando expostos aos antígenos eritrocitários, no entanto poderá haver a presença de anticorpos capazes de se ligar ao antígeno eritrocitário, porém incapazes de promover alguma aglutinação (BÜCHELER; GIGER, 1993; AUER; BELL, 1981). Estes anticorpos são conhecidos como anticorpos incompletos, não aglutinantes, que se ligam a hemácias que possuem antígenos específicos, mas não as aglutinam em meio salino. São conhecidos assim por apresentarem anticorpos da classe IgM em menor quantidade, estes conhecidos como anticorpos completos e aglutinantes, e sim, apresentarem anticorpos da classe IgG (GIRELLO; KÜHN, 2002).

Em relação aos títulos dos plasmas dos felinos tipo B encontrados na região, todos eles apresentaram fortes aglutinações visíveis em variados graus de diluições. Este achado de fortes aglutinações por aloanticorpos anti-A de todas estas amostras está em concordância com estudos anteriores (ARIKAN e AKKAN, 2004; AUER; BELL, 1981; BÜCHELER; GIGER, 1993; GIGER et al., 1989; GIGER; BÜCHELER, 1991; KNOTTENBELT et al., 1999b). No presente estudo como foi encontrado apenas 4 felinos tipo B na região, foram realizadas titulações de 4 plasmas apenas que contêm aloanticorpos anti-A. Este número amostral de felinos tipo B é inferior aos trabalhos relatados de titulações realizados em plasmas de felinos tipo B (ARIKAN e AKKAN, 2004; GURKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999b).

Foi encontrada em cada plasma de felino tipo B uma determinada titulação, desta forma ficando uma proporção de 1/4 (25%) para cada título na amostra populacional. Os títulos encontrados foram 32, 64, 128 e 256, havendo uma proporção encontrada de 25% para cada título. No Reino Unido, Knottenbelt et al. (1999a) encontraram uma proporção de plasmas com título 32 de 17,5% e Arikan e Akkan (2004) na Turquia encontraram uma proporção de 13,3%. Já Gurkan et al. (2005) encontraram também na Turquia uma proporção de 26,9% de plasmas com título 32, semelhante a este trabalho.

A proporção de plasmas com título 64 de anti-A no estudo relatado por Knottenbelt et al. (1999a) foi de 27,5%, semelhante ao atual trabalho. No entanto,

Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) relataram proporções menores de 11,1% e 9%, respectivamente, de plasmas com este título. Já as proporções de plasmas com título de 128 nos estudos de Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) foram de 6,67% e 3,8%, respectivamente, valores menores quando comparados com o atual estudo. Entretanto, Knottenbelt et al. (1999a) encontraram uma proporção de 17,5%, valores próximos ao atual estudo. As proporções de plasmas com título 256 nos trabalhos diferem muito do atual trabalho devido ao número de animais tipo B que estes trabalhos apresentaram como consequência do número de animais apresentarem este título ser menor. Com isso houve uma redução na proporção de plasmas com este título nos demais trabalhos. Os trabalhos realizados por Knottenbelt et al. (1999a), Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) apresentaram uma proporção de plasmas com este título de 7,5%, 2,22% e 2,6%, respectivamente.

O atual trabalho não encontrou nenhum plasma de felino tipo B que apresentasse títulos menores que 32. Outros trabalhos relatam a presença de títulos menores. Knottenbelt et al. (1999a), Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) encontraram proporções de plasmas apresentando título 16 de 7,5%, 24,4% e 28,2%. Estes mesmos autores encontraram, respectivamente, proporções de 12,5%, 28,9% e 21,8% com título 8. Já com título 4 foi encontrado, respectivamente, proporções de 2,5%, 8,9% e 3,8%. Apenas Arikan e Akkan (2004) e Gurkan et al. (2005) encontraram felinos com título 2, sendo na proporção de plasmas de 4,51% e 3,8%, respectivamente. No entanto, diversos trabalhos relatam que gatos tipo B com plasmas apresentando títulos menores que 4 são raros (ARIKAN; AKKAN, 2004; GURKAN et al., 2005).

A realização da titulação sob diluições ao 2-Mercaptoetanol (2-ME) foi de suma importância neste estudo, principalmente para avaliação da atividade e capacidade aglutinante dos aloanticorpos anti-A e anti-B. Sabe-se que a capacidade aglutinante é determinada principalmente por aloanticorpos da classe IgM, no entanto o tratamento com 2-ME permite a redução da atividade aglutinante do IgM, pois este fica inativado ao 2-ME (ADLER; FRANK, 1965; BÜCHELER; GIGER, 1993; IKEMOTO; SAKURAI, 1981; MOLLISON et al., 2005). No entanto, a classe IgG possui também atividade aglutinante, não fortemente como a classe IgM (WILKERSON et al., 1991). A atividade aglutinante do IgG poderá ser visualizada principalmente naqueles plasmas que possuem altos títulos de anticorpos, na qual é

vista principalmente em felinos tipo B que possuem altos títulos de aloanticorpos anti-A, o que não acontece com os felinos com tipo sanguíneo A, que possuem baixos títulos de aloanticorpos anti-B, portanto a atividade aglutinante nestes é praticamente caracterizada pela classe IgM (BÜCHELER; GIGER, 1993).

Todos os plasmas de felinos tipo A contendo aloanticorpos anti-B foram diluídos em 2-ME de 1:2 a 1:1024 para realização das titulações. Não foi encontrado nenhum título (título 0) nos plasmas armazenados, não apresentando aglutinações nas diluições. Portanto, ocorreu a inatividade da classe IgM ao tratamento com 2-ME, havendo a destruição das ligações dissulfeto deste anticorpo como descrito em estudos prévios (ADLER; FRANK, 1965; BÜCHELER; GIGER, 1993). Entende-se, portanto, que a atividade aglutinante nos aloanticorpos anti-B não sejam provenientes da classe IgG, mas a anticorpos da classe IgM nestes aloanticorpos anti-B. Bücheler e Giger (1993) relataram resultados semelhantes quando aplicaram várias diluições ao 2-ME em 3 plasmas de felinos tipo A. Neste trabalho, estes plasmas nas diluições em salina apresentaram uma média geométrica de 6 como título, mas ao titular estes plasmas em variados volumes de 2-ME na concentração de 0,2 M, estes plasmas não foram capazes de aglutinar hemácias, possuindo portanto média de título 0. Desta forma, a não presença de aglutinação dos plasmas anti-B no atual trabalho em variados graus de diluição em 2-ME é semelhante ao proposto por Bücheler e Giger (1993), na qual não houve aglutinação por aloanticorpos anti-B nas diluições ao 2-ME.

Nas diluições em 2-ME, os plasmas dos felinos tipo B mantiveram alguma capacidade aglutinante, no entanto reduzida, pois apresentaram títulos menores ao tratamento. Como descrito por Bücheler e Giger (1993), a atividade aglutinante do plasma que contém aloanticorpos anti-A reduz ao tratamento com 2-ME, no entanto ainda se mantém alguma atividade aglutinante. Wilkerson et al. (1991) relataram que a classe IgG ainda mantém a atividade aglutinante após o tratamento. No presente trabalho 4 plasmas de felinos tipo B aplicados a diluições ao 2-ME apresentaram títulos 2 (na titulação em salina apresentou título 32), 8 (na titulação em salina apresentou título 64) e 2 plasmas apresentando título 32 (sendo que um plasma apresentou título em salina de 128 e outro de 256). A média geométrica encontrada nestes títulos em 2-ME foi de 11. A atividade aglutinante também foi reduzida e as titulações diminuíram no tratamento de plasmas em diluições ao 2-ME no trabalho

realizado por Bücheler e Giger (1993). Estes autores também verificaram esta redução na atividade aglutinante também em 4 plasmas de felinos onde eles demonstram que na titulação em salina estes plasmas apresentam uma média geométrica de 240 como título, mas nas titulações ao 2-ME na concentração 0,2M estes apresentaram uma média geométrica nos títulos de 10, semelhante ao atual trabalho.

Há um consenso que o sistema imune de mamíferos sofre desregulação com o avançar da idade, na qual é confirmado por trabalhos em observações experimentais e clínicas em humanos e roedores (CASTLE, 2000; TARAZONA et al., 2002; LINTON; THOMAN, 2001) e que esta desregulação é conhecida como imunossenescência (CAMPBELL et al., 2004; DAY, 2008). No presente estudo os títulos não variaram com a idade, não havendo aumento ou diminuição nestes títulos com o avançar da idade, não havendo variância nos títulos de aloanticorpos naturais totais nos felinos tipo A. Campbell et al. (2004) relataram que os níveis de imunoglobulinas como IgM e IgA aumentam em animais idosos, no entanto isso não tinha sido observado no gato, onde elevados níveis de imunoglobulinas têm sido observados em idades avançadas em humanos e camudongos (BÁTORY et al., 1984; DE GREEF et al., 1992; ZHAO et al., 1995). Zhao et al. (1995) confirmaram que o aumento dos níveis de imunoglobulinas com a idade possa ser devido ao aumento de células secretoras de anticorpos, assim como foi verificado por Cossarizza et al. (1997), que relatam que o aumento de linfócitos B e plasmócitos em outros órgãos ou aumento na produção por célula aumentam os níveis de imunoglobulinas. No entanto, nenhum estudo relacionado aos títulos de aloanticorpos tem demonstrado que os efeitos da idade, doenças ou fatores ambientais modifiquem os títulos de aloanticorpos naturais (BÜCHELER; GIGER, 1993; GURKAN et al., 2005; KNOTTENBELT et al., 1999a).

6- CONCLUSÃO

- 1- O tipo sangüíneo A foi o predominante na região seguido do tipo B com baixa predominância e o tipo AB sendo não identificado;
- 2- Há necessidade de tipagem sangüínea em felinos domésticos quando se necessitar de doadores sangüíneos;
- 3- Deve ser criado um cadastro de felinos domésticos de possíveis doadores sangüíneos;
- 4- Todos os laboratórios de Patologia Clínica devem possuir equipamentos e técnicos aptos à realização da tipagem sangüínea em felinos domésticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLER, D.; FRANK, L. Dissociation of macroglobulins with mercaptoethanol. **Journal of immunology**, v.95, n.1, p.39-42, 1965.

ANDREWS, G.A. et al. N-Glycolylneuraminic acid and N-acetylneuraminic acid define feline blood group A and B antigens. **Blood Journal**, v.79, n.9, p.2485-2491, 1992.

ARIKAN, S. et al. Blood Type A and B Frequencies in Turkish Van and Angora Cats in Turkey. **Journal of Veterinary Medicine A**, v.50, p. 303–306, 2003.

ARIKAN, S.; AKKAN, H.A. Titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in Turkish Van cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 45, p. 289-292, 2004.

ARIKAN, S. et al. Frequencies of blood type A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Turkey. **Journal of Small Animal Practice**, v.47, p.10–13, 2006.

AUER, L.; BELL, K. Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. **Research in Veterinary Science**, v.35, n.2, p.145-152, 1983.

AUER, L.; BELL, K. AB blood group system in the domestic cat. **Animal blood groups and biochemical genetics**, v.11, p.63-64, 1980.

AUER, L.; BELL, K. The AB blood group system of cats. **Animal blood groups and biochemical genetics**, v.12, n.4, p.287-297, 1981.

AUER, L. et al. Transfusion reactions in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.187, p.729-730, 1982.

BAGDI, N. et al. Frequencies of feline blood types in Hungary. **Acta Veterinaria Hungarica**, v.49, n.4: p.369-375, 2001.

BARFIELD, D.; ADAMANTOS, S. Feline blood transfusions: A pinker shade of pale. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.13, p.11-23, 2011.

BARRS, V.R. et al. Erythrocytic pyruvate kinase deficiency and AB blood types in Australian Abyssinian and Somali cats. **Australian Veterinary Journal** , v.87, p.39–44, 2009.

BÁTORY, G. et al. Antibody and immunoglobulin levels in aged humans. [Archives of Gerontology and Geriatrics](#), v.3, p.175-188, 1984.

BELL, K. The blood groups of domestic mammals. In:_____ **Red blood cells of domestic mammals**. Edited by Agar NS, Board PG: Elsevier Science Publishers; 1983, p.133-164.

BÜCHELER, J.; GIGER, U. Alloantibodies against A and B blood types in cats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.38, p.283-295, 1993.

BUTLER, M.; ANDREWS, A.; SMITH, J.E. Reactivity of lectins with feline erythrocytes. **Comparative Hematology International**, v.1, p.217-219, 1991.

CAIN, G.R.; SUZUKI, Y. Presumptive neonatal isoerythrolysis in the cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.187, p.46-48, 1985.

CAMPBELL, D.J. et al. Age-related differences in parameters of feline immune status. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.100, p.73-80, 2004.

CASAL, M.L. et al. Transfer of colostral antibodies form queens to their kittens. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, p.1653-1658, 1996.

CASTLE, S.C. Clinical relevance of age-related immune dysfunction. **Clinical Infectious Diseases**, v.31, p.578-585, 2000.

CONTINANZA, R.; LUBAS, G.; GUGLIUCCI, B. Indagini preliminarisul di gruppo sanguigno AB nel gatto allevato in Italia. **Atti Soci Ital Sci Vet**, v.XLVI, p.1470-1477, 1992.

COSSARIZZA, A. et al. Cytometric analysis of immunosenescence. **Journal Cytometry, Part A**, v.27, p.297-313, 1997.

DAY, M.J. **Clinical immunology of the dog and cat**. 2^a Ed. Manson Publishing, 2008, p.58-59.

DE GREEF, G.E.; VAN TOL, M.J. VAN DEN BERG, J.W. Serum immunoglobulin class and IgG subclass levels and the occurrence of homogeneous immunoglobulins during the course of ageing in humans. [Mechanisms of Ageing and Development](#), v.66, p.29-44, 1992.

EJIMA, H.; KUROKAWA, K.; IKEMOTO, S. Feline red blood cell groups detected by naturally occurring isoantibody. [Japanese journal of veterinary science](#), v.48, p.971-976, 1986.

ELDREDGE, D.M. et al. **Cat Owner's Home Veterinary Handbook**. 3^a ed. Wiley Bicentennial Logo: Richard J. Pacifico, 2007, p. 314 – 315.

EYQUEM, A., PODLIACHOUK, L, MILOT, P. Blood groups in chimpanzees, horses, sheep, pigs and other mammals. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.97, p.320-328, 1962.

GANDOLFI, R.C. Feline neonatal isoerythrolysis: a case report. **California Veterinary Journal**, v.3, p.9-11, 1988.

GIGER, U. Blood typing and crossmatching to ensure compatible transfusions. **Kirk's Current Veterinary Therapy**, v.13, p.396–399, 2000.

GIGER U. Blood-typing and crossmatching. In_____ **Bonagura J.D. Kirk's Current Veterinary Therapy XIV**, Saunders Elsevier, Missouri, 2009, p.260–265.

GIGER, U. **Blood type incompatibility in cats**. 2002. Disponível: http://www.pandecats.com/gen/author_index.php?name=Giger&listname=Dr.%20Urs%20Giger. Acesso em: 26 fev. 2010.

GIGER, U.; AKOL, K.G. Acute hemolytic transfusion reaction in na Abyssinian cat with type-B blood. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.4, p.315-316, 1990.

GIGER, U.; BUCHELER, J.; PATTERSON, D.F. Frequency and Inheritance of A and B blood types in feline breeds of the United States. [Journal of Heredity](#), v.82, p.15-20, 1991(a).

GIGER, U. et al. Geographical variation of the feline blood type frequencies in the United States. **Feline Practice**, v.19, n.6, p.21-27, 1991(b).

GIGER, U. BÜCHELER, J. Transfusion of type-A and type-B blood to cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.198, p.411-418, 1991.

GIGER, U.; GORMAN, N.T.; HUBLER, M. Frequencies of feline type A and B blood types in Europe. **Animal Genetics**, v.23, p.17-18, 1992a.

GIGER, U.; KILRAIN, C.G.; FILIPPICH, L.J.; BELL, K. Frequencies of feline blood groups in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.195, n.9, p.1230-1232, 1989.

GIGER, U.; CASAL, M.L. Feline colostrum-friend or foe: maternal antibodies in queens and kittens. **Journal of reproduction and fertility. Supplement**, v.51, p.313-316, 1997.

GIGER, U. Feline transfusion medicine. **Problems in Veterinary Medicine**, v.4, n.4, p.600-611, 1992b.

GIRELLO, A.L.; KÜHN, T.I.B.B. **Fundamentos de imuno-hematologia eritrocitária**. Editora Senac São Paulo, 2002, p.59-60.

GRIOT-WENK, M.E. et al. Biochemical characterization of the feline AB blood group system. **Animal Genetics**, v.24, n.6, p.401-407, 1993.

GRIOT-WENK, M.E. et al. Blood type AB in the feline AB blood group system. **American Journal of Veterinary Research**, v.57, n.10, p.1438-1442, 1996.

GUERRA, T.A. et al. Feline blood typing: 148 domestic cats in Lacvet – UFRGS laboratory routine. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.35, n.2, p.573-574, 2007.

GURKAN, M.; ARIKAN, S.; OZAYTEKIN, E. Titres of alloantibodies against A and B blood types in non-pedigree domestic cats in Turkey: assessing the transfusion reaction risk. **Journal Feline Medicine and Surgery**, v.10, p.1-5, 2005.

HAARER, M.; GRUNBAUM, E. Blutgruppenserologische Untersuchungen bei Katzen in Deutschland. **Kleintierpraxis**, v.38, p.195-204, 1993.

HOHENHAUS, A.E. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. **Transfusion Medicine Reviews**, v.18, p.117-126, 2004.

HOLMES, R. Blood groups in cats. **The Journal of Physiology**, v.111, 611 p., 1950.

HOLMES, R. The occurrence of blood groups in cats. **Journal of Experimental Biology**, v. 30, p.350-357, 1953.

HUBLER, M. et al. The blood group distribution in domestic cats in Switzerland. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v.135, n.8, p.231-235, 1993.

HUBLER, M.; KAELIN, S.; HAGEN, A. Feline neonatal isoerythrolysis in two litters. **Journal of Small Animal Practice**, v.28, p.833-838, 1987.

IKEMOTO, S.; SAKURAI, Y. Individual difference within the cat blood group detected by isohemagglutinin. **Nippon Juigaku Zasshi**, v.43, p.433-435, 1981.

INGEBRIGSTEN, R. The influence of isoagglutinins on the final results of homoplastic transplantation arteries. [The Journal of Experimental Medicine](#), v.16, p.169-177, 1912.

JACOMET, L. et al. Frequency of different blood groups in cats in Buenos Aires. **Revista de Medicina veterinária (Buenos Aires)**, v.78, p.428-431, 1997.

JENSEN, A.L.; OLESEN, A.B.; ARNBJERG, J. Distribution of feline blood types detected in the Copenhagen area of Denmark. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.35, p.121-124, 1994.

JONSSON, N.N.; PULLEN, C.; WATSON, A.D.J. Neonatal isoerythrolysis in Himalayan kittens. **Australian Veterinary Journal**, v.67, p.416-417, 1990.

KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**, 6^a ed. Elsevier Inc., 2008, p. 192-193.

KERL, M.E.; HOHENHAUS, A.E. Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases (1989). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.202, p.1495-1499, 1993.

KNOTTENBELT, C.M. The feline AB blood group system and its importance in transfusion medicine. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.4, p.69-76, 2002.

KNOTTENBELT, C.M. et al. Measurement of titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in the UK. **Journal Small Animal Practice**, v. 40, p.365-370, 1999a.

KNOTTENBELT, C.M. et al. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. **Journal Small Animal Practice**, v.40, n.3, p.115-118, 1999b.

LACERDA, L.A. et al. Prevalência dos tipos sanguíneos A, B e AB em gatos domésticos mestiços da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, p. 46-53, 2008.

LEIDINGER, J.; LEIDINGER, E.; GIGER, U. Distribution and importance of feline blood type-A and type-B in Austria. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, v.80, p.10–14, 1993.

LINTON, P.; THOMAN, M.L. T cell senescence. [Frontiers in Bioscience](#), v.6, p.248-256, 2001.

MALE, D. Reactions against blood cells and platelets. In: _____ **Immunology**, 4^a Ed. St. Louis, 1996, p.233-236.

MALIK, R. et al. The prevalence of feline A/B blood types in the Sydney region. **Australian Veterinary Journal**, v83, n.1-2, p.38-44, 2005.

MARQUES, Cátia Filipa Saraiva. **Frequência do antígeno eritrocitário DEA 1.1 em canídeos e dos antígenos eritrocitários A, B e AB em felídeos de Lisboa, Portugal**. Lisboa, Universidade Técnica de Lisboa, 2010, 98p. Disponível em: <http://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/2176> - 18 de dezembro de 2010.

MEDEIROS, A.S. et al. Frequencies of feline blood types in the Rio de Janeiro area of Brazil. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 37(3), p.272-276, 2008.

MOLLINSON, P.L.; ENGELFREIT, C.P.; CONTRERAS, M. **Mollison's blood transfusion in clinical medicine**. 10 Ed. Blackwell Publishing, 2005, 891p.

MYLONAKIS, M. E. et al. Determination of the prevalence of blood types in the non-pedigree feline population in Greece. **Veterinary Record Journal**, v. 149, p. 213–214, 2001.

NELSON, W.H.; COX, M.M. **Lehninger: Principles of biochemistry**. 4^a Ed. Freeman, Cidade, 2004, 1119 p.

OTTENBURG, R.; THALHIMER, W. Studies in experimental transfusion. **Medical Research Journal**, v.28, p.213-229, 1915.

PENEDO, M.C.T.. Red blood cell antigens and blood groups in the cow, pig, sheep, goat, and llama . In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2000, p. 778–782.

PERRYMAN, L.E.; OLSEN, R.G.; YOHAN, D.S. Comparison of the serologic response in cats to various antigens, using homologous and heterologous complement. **American Journal of Veterinary Research**, v.34, p.1529-1532, 1973.

RUIZ DE COPEGUI, R.; VELASQUEZ, M.; ESPADA, Y. Survey of feline blood types in the Barcelona area of Spain. **The Veterinary Record**, v.154,n.25, p.794-795, 2004.

SCHULTZ, R.D. et al. Feline immunoglobulins. **Infection and Immunity**, v.9, p.391-393, 1974.

SILVESTRE-FERREIRA, A.C. et al. Frequencies of feline blood types in northern Portugal. **Veterinary Clinical Pathology**, v.33, p.204-243, 2004a.

SILVESTRE-FERREIRA, A.C. et al. Blood types in the non-pedigree cat population of Gran Canaria. **The Veterinary Record**, v.155, n.24, p.778-779, 2004b.

SILVESTRE-FERREIRA, A.; PASTOR, J. Feline Neonatal Isoerythrolysis and the Importance of Feline Blood Types. **Veterinary Medicine International**, v.10, p.1-8, 2004.

STORMONT, C.J. Blood groups in animals . **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 181, p.1120 – 1124, 1982.

TARAZONA, R. et al. Basic biology and clinical impact of immunosenescence. **Experimental Gerontology**, v.37, p.183-189, 2002.

TIZARD, I.R. **Veterinary Immunology: An Introduction**. 6^a ed. Saunders, Philadelphia, 2002, 548 p.

VON HAARER, M.; GRUNBAUM, E.G. Zur klinischen Bedeutung der Blutgruppen bei Katzen. **Die Edelkatze**, v.1, p.12-14, 1990.

WEINGART, C.; GIGER, B.; KOHN, B. Whole blood transfusions in 91 cats: a clinical evaluation. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.6, p. 139-148, 2004.

WEINSTEIN, N. M. et al. A newly recognized blood group in domestic shorthair cats: the Mik red cell antigen. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.21, p.287 – 292, 2007.

WILKERSON, M.L.; MEYERS, K.M.; WARDROP, K.J. Anti-A Isoagglutinins in two blood type B cats are IgG and IgM. **Veterinary Clinical Pathology**, v.20, p.10-14, 1991.

ZHAO, K.S. et al. Dysregulation of the humoral immune response in old mice. **International Immunology**, v.7, p.929-934, 1995.

ANEXOS

Nº	Nome	Sexo	Idade	Raça	Tipo sanguíneo	Padrão de aglutinação	Titulação em PBS		Título em 2-Mercaptoetanol
							Título	Grau de aglutinação	
1	Loirinho	Macho	15 anos	SRD	A	1+	4	W	0
2	Fofinha	Fêmea	12 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
3	Amora	Fêmea	15 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
4	Ikinho	Macho	5 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
5	Judite	Fêmea	3 anos	SRD	A	1+	4	2+	0
6	Lelinho	Macho	6 anos	SRD	A	1+	2	2+	0
7	Mamão	Macho	6 anos	SRD	A	1+	4	W	0
8	Amor	Macho	14 anos	SRD	A	1+	2	2+	0
9	Mimosa	Fêmea	13 anos	SRD	A	1+	8	1+	0
10	Serena	Fêmea	14 anos	SRD	A	2+	4	w	0
11	Embolado	Macho	4 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
12	Xamego	Macho	14 anos	SRD	A	1+	2	2+	0
13	Branca	Fêmea	5 meses	SRD	A	1+	2	1+	0
14	Jaguá	Macho	8 meses	SRD	A	1+	M (2)	W	0
15	Sebastian	Macho	8 meses	SRD	A	1+	M (2)	W	0
16	Francisco	Macho	1 ano	SRD	A	1+	M (2)	W	0
17	Lili	Fêmea	9 anos	SRD	A	1+	4	W	0
18	Rodolfo	Macho	2 anos	SRD	B	W	32	2+	2
19	Nem	Fêmea	7 anos	SRD	A	1+	8	W	0
20	Dafine	Fêmea	5 meses	SRD	A	1+	M (2)	W	0
21	Mel	Fêmea	8 meses	SRD	A	1+	2	1+	0
22	Pretinha	Fêmea	3 anos	SRD	A	1+	M (2)	W	0
23	Tuquinha	Fêmea	9 meses	Persa	A	1+	M (2)	W	0
24	Timinha	Fêmea	3 anos	SRD	A	2+	0	-	0
25	Mimi	Fêmea	2 anos	SRD	A	1+	4	W	0
26	Puca	Fêmea	9 meses	SRD	A	1+	M (2)	W	0
27	Gatinho	Macho	4 meses	SRD	A	1+	4	W	0
28	Tião	Macho	2 anos	SRD	A	1+	4	W	0
29	Tenória	Fêmea	2 anos	SRD	A	2+	8	W	0
30	Nina	Fêmea	5 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
31	Spice	Fêmea	15 anos	SRD	A	1+	2	1+	0

Anexo 1 – Dados resumidos de todos animais e juntamente a classificação das tipagens e seus padrões de aglutinações, titulações por aglutinação nas diluições em tampão PBS (com os graus de aglutinação) e em 2-Mercaptoetanol.

Nº	Nome	Sexo	Idade	Raça	Tipo sanguíneo	Padrão de aglutinação	Titulação em PBS		Título em 2-Mercaptoetanol
							Título	Grau de aglutinação	
32	Gabi	Fêmea	5 anos	Siamês	A	1+	2	1+	0
33	Chambinha	Fêmea	5 anos	Siamês	A	1+	M (2)	W	0
34	Kika	Fêmea	3 anos	SRD	A	1+	4	3+	0
35	Pingo	Macho	3 anos	SRD	A	1+	4	2+	0
36	Lindinha	Fêmea	9 anos	SRD	A	2+	4	W	0
37	Armani	Macho	8 meses	Persa	A	1+	2	1+	0
38	Flokinha	Fêmea	2 anos	SRD	A	1+	M (2)	W	0
39	Claro	Macho	1 anos	SRD	A	2+	4	1+	0
40	Escuro	Macho	1 anos	SRD	A	2+	M (2)	W	0
41	Médio	Macho	1 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
42	Encrenca	Macho	2 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
43	Bambam	Macho	5 anos	SRD	A	2+	2	1+	0
44	Amy	Fêmea	2 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
45	Motorzinho	Macho	3 anos	SRD	A	W	2	1+	0
46	Zulu	Macho	3 anos	Persa	B	W	256	1+	32
47	Valentin	Macho	1 ano	SRD	A	1+	2	1+	0
48	Filinha	Fêma	1 ano	SRD	A	2+	4	2+	0
49	Mascarado	Macho	1 ano	SRD	A	2+	2	1+	0
50	Miguelito	Macho	1 ano	SRD	A	1+	4	W	0
51	Pretinha	Fêmea	4 anos	SRD	A	2+	8	W	0
52	Melzinho	Macho	14 anos	SRD	A	2+	4	W	0
53	Cindy	Fêmea	4 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
54	Anabele	Fêmea	6 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
55	Didi	Fêmea	5 anos	SRD	A	1+	2	2+	0
56	Chicão	Macho	5 anos	SRD	A	2+	M (2)	W	0
57	Rodolfo	Macho	5 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
58	Clark	Macho	5 anos	SRD	A	1+	4	W	0
59	Teodoro	Macho	6 anos	SRD	A	1+	4	W	0
60	Mabel	Macho	6 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
61	Nina	Fêmea	3 anos	SRD	A	1+	2	2+	0
62	Frajola	Macho	6 meses	SRD	A	1+	M (2)	W	0

Anexo 1 – Continuação: Dados resumidos de todos animais e juntamente a classificação das tipagens e seus pardões de aglutinações, titulações por aglutinação nas diluições em tampão PBS (com os graus de aglutinação) e em 2-Mercaptoetanol.

Nº	Nome	Sexo	Idade	Raça	Tipo sanguíneo	Padrão de aglutinação	Titulação em PBS		Título em 2-Mercaptoetanol
							Título	Grau de aglutinação	
63	Branca	Fêmea	10 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
64	Smith	Macho	9 meses	Siamês	A	1+	4	W	0
65	Chimbinha	Fêmea	1 ano	SRD	A	1+	4	W	0
66	Miranda	Fêmea	5 anos	SRD	A	1+	8	W	0
67	Perla	Fêmea	7 anos	Persa	B	W	128	2+	32
68	Enzo	Macho	1 ano	Persa	B	W	64	1+	8
69	Mustafa	Macho	8 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
70	Gatão	Macho	11 anos	SRD	A	1+	4	3+	0
71	Neguinho	Macho	3 anos	SRD	A	2+	8	1+	0
72	Kirara	Fêmea	1 ano	SRD	A	2+	M (2)	W	0
73	João	Macho	8 anos	Siamês	A	1+	2	1+	0
74	Gatinho	Macho	7 anos	SRD	A	1+	8	2+	0
75	Pequena	Fêmea	3 meses	SRD	A	1+	2	1+	0
76	Frajola	Macho	3 anos	SRD	A	1+	8	1+	0
77	Cherry	Macho	1 ano	SRD	A	1+	4	1+	0
78	Branco	Macho	2 anos	SRD	A	3+	2	1+	0
79	Snowbell	Macho	7 anos	Siamês	A	2+	4	W	0
80	Gal	Fêmea	1 ano	SRD	A	1+	4	1+	0
81	Branquinha	Fêmea	1 ano	SRD	A	1+	2	2+	0
82	Thayga	Fêmea	1 ano	SRD	A	2+	4	W	0
83	Joly	Fêmea	1 ano	SRD	A	2+	2	1+	0
84	Dara	Fêmea	7 anos	Siamês	A	+2	M (2)	W	0
85	Margarina	Fêmea	3 anos	SRD	A	2+	2	2+	0
86	Simba	Macho	8 meses	SRD	A	2+	4	W	0
87	Luiz Felipe	Macho	4 anos	SRD	A	3+	2	1+	0
88	Ana Carol	Fêmea	4 anos	SRD	A	1+	4	2+	0
89	Nutella	Fêmea	8 meses	SRD	A	1+	4	W	0
90	Rebeca	Fêmea	11 anos	SRD	A	1+	4	1+	0
91	Mel	Fêmea	2 anos	SRD	A	1+	2	1+	0
92	Gata 1	Fêmea	< 1 ano	SRD	A	2+	2	1+	0
93	Gata 2	Fêmea	< 1 ano	SRD	A	2+	4	1+	0

Anexo 1 – Continuação: Dados resumidos de todos animais e juntamente a classificação das tipagens e seus padrões de aglutinações, titulações por aglutinação nas diluições em tampão PBS (com os graus de aglutinação) e em 2-Mercaptoetanol.

Nº	Nome	Sexo	Idade	Raça	Tipo sanguíneo	Padrão de aglutinação	Titulação em PBS		Título em 2-Mercaptoetanol
							Título	Grau de aglutinação	
94	Gata 3	Fêmea	< 1 ano	SRD	A	2+	M (2)	W	0
95	Luigui	Macho	4 anos	SRD	A	1+	8	W	0
96	Nick	Macho	3 anos	SRD	A	1+	8	1+	0
97	Bela	Fêmea	8 meses	Persa	A	1+	8	W	0
98	Marieta	Fêmea	2 anos	Persa	A	1+	4	W	0
99	Pandora	Fêmea	1 ano	SRD	A	1+	M (2)	W	0
100	Alice	Fêmea	1 ano	SRD	A	1+	2	1+	0

Anexo 1 – Continuação: Dados resumidos de todos animais e juntamente a classificação das tipagens e seus padrões de aglutinações, titulações por aglutinação nas diluições em tampão PBS (com os graus de aglutinação) e em 2-Mercaptoetanol.

Formulário de Atendimento ao paciente e Pesquisa

Nome:	Idade:	
Proprietário:	Data:	
Espécie: Felina	Raça:	Sexo:
Médico(a) Veterinário(a):		
Histórico e anamnese:		
Exame Físico:		
Suspeita Clínica:		
Tratamento:		
Tipo sanguíneo:		
Doador de sangue: () Sim () Não		

Anexo 2 – Formulário para preenchimento dos dados dos animais, juntamente com a investigação da história clínica e anamnese, avaliação da sanidade animal com exame físico e suspeita clínica ou até mesmo o diagnóstico para alguma doença, com seu tratamento quando necessário. Tipo sanguíneo e confirmação com o proprietário se o paciente pode ser doador.