

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Disciplina: SEMINÁRIOS APLICADOS

TIPAGEM SANGUÍNEA DE CÃES E GATOS

Sarah Barboza Martins
Orientador: Juan Carlos Duque Moreno

Goiânia
2011

SARAH BARBOZA MARTINS

TIPAGEM SANGUÍNEA DE CÃES E GATOS

Seminário apresentado junto à Disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Nível: Mestrado

Área de Concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia

Linha de Pesquisa:

Técnicas cirúrgicas e anestésicas, patologia clínica cirúrgica e cirurgia experimental

Orientador:

Prof. Dr. Juan Carlos Duque Moreno – UFG

Comitê de Orientação:

Prof^a Dr^a Denise Tabacchi Fantoni – USP

Prof. Dr. Adilson Donizeti Damasceno – UFG

Goiânia

2011

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABELAS	V
1. INTRODUÇÃO	1
2. Revisão de Literatura	3
2.1 Cães	3
2.1.1 Genética	4
2.1.2 Grupos sanguíneos de cães.....	7
a. <i>Dog Erythrocyte Antigen</i> - DEA 1	7
b. <i>Dog Erythrocyte Antigen</i> - DEA 3 e DEA 5.....	8
c. <i>Dog Erythrocyte Antigen</i> - DEA 4	9
d. <i>Dog Erythrocyte Antigen</i> - DEA 7	10
e. <i>Dog Erythrocyte Antigen</i> - DEA 6 e DEA 8.....	11
f. Dal.....	11
g. Sistema Shigeta (SGT).....	12
2.1.3 Frequência fenotípica	13
2.2 Gatos.....	15
2.2.1 Genética	17
2.2.2 Frequência fenotípica	19
2.3 Métodos de tipagem sanguínea e testes de compatibilidade.....	21
2.3.1 Testes de tipagem.....	23
2.3.2 Teste de compatibilidade.....	27
3. Considerações finais	30
REFERÊNCIAS.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Exemplo esquemático do fenótipo sanguíneo de um cão. Fonte: MARQUES, 2010	6
Figura 2 - Método de cartão de tipagem sanguínea para sistema AB de gatos (A) e para o grupo sanguíneo DEA 1.1 de cão (B).....	25
Figura 3 – Método de tipagem sanguínea baseado em anticorpos monoclonais para o grupo sanguíneo DEA 1.1 de cães (A) e para o sistema AB de gatos (B).....	26
Figura 4 – Interpretação dos resultados obtidos em teste de tipagem sanguínea ou de compatibilidade por aglutinação em coluna de gel.....	26
Figura 5 – Teste de tipagem sanguínea de gato por aglutinação em coluna de gel.	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Caracterização molecular de alguns antígenos eritrocitários de cães.	5
Tabela 2 -Frequência dos antígenos eritrocitários em cães de raça indeterminada em diversos países.....	13
Tabela 3- Frequência de tipos sanguíneos em cães em dois Estados brasileiros.....	14
Tabela 4 - Frequência de antígenos eritrocitários da população canina geral nos Estados Unidos da América e em outros países.	15
Tabela 5 - Frequência de eventos clinicamente significativos após transfusões de sangue incompatível em gatos.....	19
Tabela 6 - Frequência de tipos sanguíneos do sistema AB da população geral de gatos em diferentes países.	20
Tabela 7 - Frequência dos tipos sanguíneos do Sistema AB de gatos sem raça definida em diferentes regiões do Brasil.	21
Tabela 8 - Esquema para leitura e interpretação dos resultados obtidos em tipagem sanguínea feita pelo método MSU.	24
Tabela 9 - Esquema para proceder o teste de compatibilidade com prova maior e prova menor.	28

1. INTRODUÇÃO

A medicina transfusional teve início no século XV com a administração de sangue por via oral ao papa Inocêncio VIII, pois até esse momento não eram conhecidos os conceitos de circulação sistêmica e de injeção intravenosa, descritos por Willian Harvey em 1628 e por Christopher Wren em 1656, respectivamente. A primeira transfusão bem sucedida descrita foi feita entre cães, seguida de tentativas frustradas de se transfundir sangue animal para humanos. Devido ao insucesso os estudos na área foram interrompidos durante anos e somente em 1818 foi então relatada a primeira transfusão de sangue entre humanos bem-sucedida, feita por James Blundell (EUA, 2002).

Em 1901 Landsteiner descreveu os três principais grupos sanguíneos humanos (A, B e C) e no ano seguinte Decastello e Sturi descreveram o tipo AB, determinantes para o desenvolvimento de provas de compatibilidade sanguínea (EUA, 2002).

Os avanços em humanos impulsionaram os estudos em medicina veterinária, apesar de a prática do uso terapêutico de sangue e seus derivados ter mais de 60 anos, a maior parte do desenvolvimento clinicamente relevante nessa área ocorreu a partir da década de 90 (CASTELLANOS et al., 2004).

Nos últimos anos a medicina transfusional, bem como os estudos sobre imunohematologia, se tornaram essenciais para o tratamento de diversas doenças, o que incentivou o desenvolvimento de novas tecnologias e o melhor entendimento sobre o uso de sangue e seus componentes. Talvez ainda mais importante seja a caracterização e entendimento das implicações que uma transfusão incompatível pode causar nos pacientes (TOCCI & EWING, 2009).

Atualmente, as transfusões sanguíneas são cada vez mais comuns na medicina veterinária tanto para pequenos quanto para grandes animais, sendo frequentemente utilizadas em procedimentos emergenciais e cirúrgicos. As principais indicações são anemias graves com risco à vida, doenças imunomediadas, condições não-regenerativas graves e isoeritrolise neonatal. Não é incomum encontrar pacientes com histórico de transfusão prévia que

precisam de nova transfusão. Nesses casos, é necessário o uso de testes pré-transfusionais rápidos e sensíveis, como a tipagem sanguínea, que devem ser feitos idealmente em todos os pacientes submetidos à transfusão de sangue e seus derivados (TOCCI & EWING, 2009; TOCCI, 2010).

Devido à melhora na qualificação profissional, ao aumento da demanda por serviços especializados e à maior conscientização dos proprietários, o mercado exige serviços de maior qualidade e segurança na medicina veterinária. Esse é o caso da medicina transfusional, área emergente da clínica de pequenos e grandes animais. Dada a importância da medicina transfusional na prática clínico-cirúrgica na medicina veterinária, neste trabalho foi realizada uma breve revisão de literatura acerca dos principais grupos sanguíneos, suas implicações clínicas e as principais formas disponíveis e viáveis para determinação do tipo sanguíneo e para realização dos testes de compatibilidade previamente às transfusões sanguíneas em cães e gatos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Os antígenos eritrocitários de membrana, localizados na superfície dos eritrócitos, são detectados e descritos com base na sorologia com anticorpos monoclonais ou policlonais. Esses antígenos apresentam imunogenicidade variável e, por isso, importância clínica diferente. Na medicina veterinária a importância clínica dos tipos sanguíneos está relacionada às reações transfusionais e à isoeritrolise neonatal (ANDREWS & PENEDO, 2010; SILVESTRE FERREIRA & PASTOR, 2010).

Os tipos sanguíneos são determinados por marcadores genéticos espécie-específicos da membrana dos eritrócitos que possuem características potencialmente antigênicas.

A associação de tipos sanguíneos expressos em dois ou mais alelos no mesmo *locus* determinam um sistema de grupo sanguíneo (GIGER, 2005; MALIK et al., 2005). O alelo é cada uma das formas alternativas do mesmo gene que ocupam um *locus* no cromossomo. Já o *locus* é um local fixo, invariável, do cromossomo, onde está localizado um determinado gene. Genes que ocupam o mesmo *locus* no cromossomo são chamados genes alelos. Quando os genes do *locus* são idênticos nos alelos e codificam uma característica igual, o indivíduo é considerado homocigoto. Mas se os genes apresentarem características distintas e ocuparem o mesmo *locus* nos alelos, o indivíduo é considerado heterocigoto (SAXENA et al., 1996).

2.1 Cães

A detecção de aloanticorpos contra antígenos da membrana de eritrócitos permitiu a descrição de mais de 12 sistemas de grupos sanguíneos em cães. Foi sugerido que algumas glicoproteínas estão relacionadas a certos grupos sanguíneos, porém ainda é necessária sua caracterização bioquímica e molecular (GIGER, 2005).

Primeiramente, os antígenos eritrocitários dos grupos sanguíneos de cães foram classificados em A, B, C, D, E, F e G, segundo a ordem de

descoberta (SUZUKI et al., 1975). Após essa classificação, foi descrito um segundo tipo de antígeno A, inicialmente denominado de A' e que é menos imunogênico do que o A. Posteriormente, esses dois subtipos foram reclassificados como A1 (antigo A), que possui alta imunogenicidade e A2 (antigo A'), que possui menor imunogenicidade do que o A1 (ANDREWS & PENEDO, 2010).

A nomenclatura atualmente utilizada para os grupos sanguíneos de cães foi determinada no segundo workshop sobre imunogenética canina, realizado em 1976, contudo não é mundialmente aceita. Esse método de classificação utiliza a sigla DEA (do inglês *Dog Erythrocyte Antigen*), seguida do número correspondente ao *locus* no cromossomo e um segundo número que corresponde a cada alelo identificado num mesmo *locus*.

Dessa forma, há sete sistemas de grupos sanguíneos de cães internacionalmente reconhecidos: DEA 1, DEA 3, DEA 4, DEA 5, DEA 6, DEA 7 e DEA 8, com o grupo DEA 1 subdividido em DEA 1.1, DEA 1.2 e DEA 1.3 (HOHENHAUS, 2004; MARQUES, 2010). Foi identificado e descrito um novo grupo sanguíneo em cães independente do sistema DEA, caracterizado pela presença de um antígeno eritrocitário denominado Dal (BLAIS et al., 2007).

Atualmente, estão disponíveis no mercado três métodos para tipagem de sangue DEA 1.1: de cartão, de coluna de gel e o MSU (*Michigan State University*). Para os tipos DEA 1.1, DEA 1.2, DEA 3, DEA 4, DEA 5 e DEA 7 somente está disponível o método MSU (GIGER et al., 2005). A maior parte dos teste de tipagem são baseados em reações de aglutinação, com os antígenos detectados pela presença de hemoaglutinação com os anticorpos poli ou monoclonais. A ausência da hemoaglutinação indica que o cão é negativo para o antígeno testado (GIBSON, 2007).

2.1.1 Genética

Os grupos sanguíneos são definidos pela presença de antígenos polimórficos e espécie-específicos presentes na membrana dos eritrócitos

(REID & WESTHOFF, 2007), entretanto a caracterização molecular (Tabela 1) desses antígenos eritrocitários ainda não está completamente definida.

CORATO et al. (1997) definiram o peso molecular de alguns antígenos eritrocitários e verificaram que os eritrócitos dos cães possuem uma proteína de membrana semelhante à do grupo sanguíneo Rh dos humanos. Todavia, ainda não foi determinada a importância clínica ou o potencial de promover reações transfusionais dessa proteína.

Tabela 1 - Caracterização molecular de alguns antígenos eritrocitários de cães.

Sistema DEA	Peso molecular
DEA 1.2 ¹	1 banda: 85 KDa
DEA 3 ²	5 bandas: 34 KDa, 53 KDa; 59 KDa, 64 KDa, 71 KDa
DEA 4 ¹	1 banda: 32-40 KDa
DEA 7 ¹	3 bandas: 53 KDa, 58 KDa, 66 KDa

FONTE: Adaptado de ¹CORATO et al., 1997; ²HARA et al., 1991.

A transmissão genética dos sistemas de grupos sanguíneos em cães ocorre de forma semelhante à dos humanos, pois trata-se de uma herança geneticamente independente entre si. Assim, um animal pode expressar mais de um antígeno, por exemplo, DEA 1.1, DEA 4 e DEA 8, mas sem que haja dominância de algum deles. Todavia, um mesmo animal não pode expressar DEA 1.1, DEA 1.2 ou DEA 1.3 de forma simultânea, uma vez que são genes expressos no mesmo *locus*. É importante ressaltar que há uma alta frequência de cães DEA 1.1 e DEA 4 positivos, o que diminui, mas não elimina, as chances de sensibilização e ocorrência de reações transfusionais por incompatibilidade.

Cada animal expressa um fenótipo para cada grupo sanguíneo, seja ele positivo ou nulo, com dominância determinada pelas leis de Mendel. A importância dos grupos sanguíneos em cães é relacionada a três fatores: 1) a incidência de determinado antígeno na população, 2) a incidência de anticorpos naturais na população, 3) o efeito da interação entre o antígeno e o anticorpo

em animais transfundidos, determinado pelo potencial antigênico de cada tipo sanguíneo (HALE, 1995; GIBSON, 2007).

Os aloanticorpos ou isoanticorpos (principalmente IgG e IgM) são os anticorpos produzidos contra tecidos provenientes de um indivíduo da mesma espécie. Há poucas informações sobre as imunoglobulinas relacionadas aos tipos sanguíneos dos cães, o que dificulta a realização de estudos sobre a antigenicidade dos antígenos eritrocitários e o entendimento das reações transfusionais ocorridas em cães (HALE, 1995).

Os estudos que visam a classificação das imunoglobulinas relacionadas aos tipos sanguíneos de cães poderiam auxiliar na implantação de novas formas de tipagem sanguínea e na produção de anti-soros específicos e eficazes (SOUZA, 2005).

A exceção do grupo sanguíneo DEA 1, cujos antígenos são expressos em alelos do mesmo *locus*, os cães podem apresentar qualquer combinação de antígenos eritrocitários (Figura 1), expressando fenótipos variados (MARQUES, 2010).

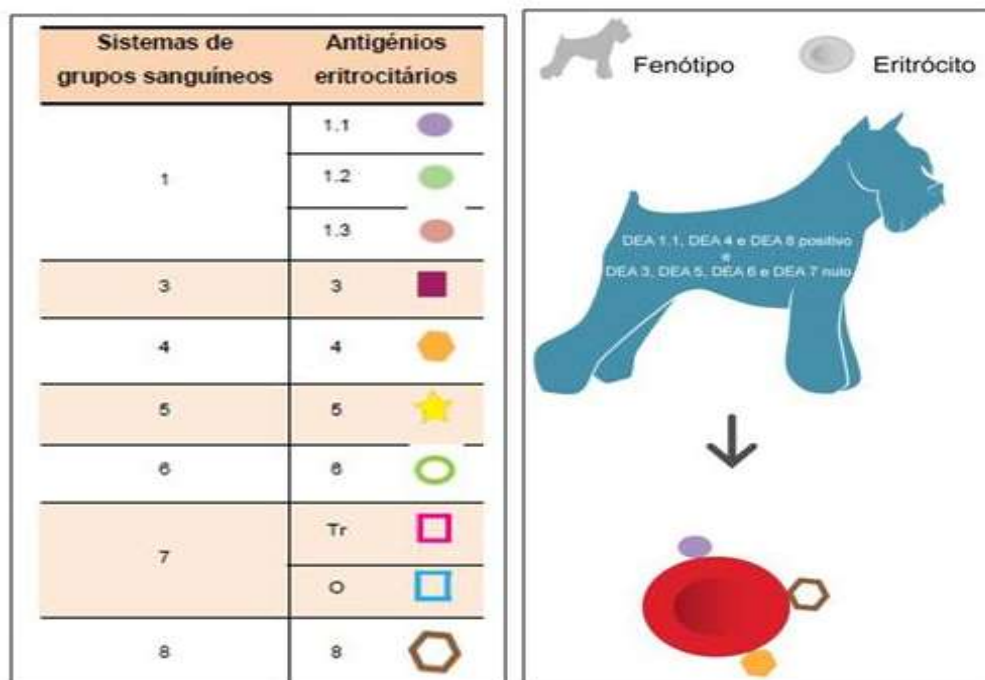


Figura 1 - Exemplo esquemático do fenótipo sanguíneo de um cão. Fonte: MARQUES, 2010

2.1.2 Grupos sanguíneos de cães

a. *Dog Erythrocyte Antigen* - DEA 1

O grupo DEA 1 (antigo A) é composto por três fatores (1.1, 1.2 e 1.3) e quatro fenótipos possíveis, de acordo com o alelo presente: DEA 1.1, DEA 1.2 ou DEA 1.3 positivo, quando apresentarem um dos três antígenos, ou o tipo DEA nulo, quando não apresentarem nenhum antígeno. Aparentemente, a transmissão genética é autossômica dominante, sendo o DEA 1.1 o de maior dominância, seguido do 1.2, 1.3 e o nulo (SYMONS & BELL, 1991).

Os antígenos eritrocitários DEA 1 são descritos como subtipos de uma série linear que induzem a produção de anti-soro responsável por provocar diferentes graus de reação cruzada com os antígenos da mesma série linear. Dessa forma, um cão negativo para DEA 1 que foi sensibilizado (ou seja, recebeu uma transfusão de sangue de qualquer subtipo DEA 1) irá produzir o antisoro Anti-DEA 1. Caso esse animal receba uma nova transfusão com sangue DEA 1.1, os eritrócitos recebidos sofrerão aglutinação intensa e hemólise; se o sangue transfundido for do tipo DEA 1.2 ou 1.3 poderá ocorrer aglutinação variável, porém sem hemólise dos eritrócitos recebidos (SYMONS & BELL, 1991; HALE, 1995).

Por outro lado, se um cão com o tipo sanguíneo DEA 1.2 receber sangue DEA 1.1 irá produzir anticorpos exclusivamente anti-DEA 1.1, comprovando a existência de ativação sorológica cruzada e sugerindo que anticorpos anti-DEA 1.1 desencadeiam resposta imune exacerbada, pois mesmo sendo do mesmo grupo (DEA 1) o DEA 1.1 induz reação transfusional no DEA 1.2 (HALE, 1995). HARA et al. (1991) e GIGER et al. (1995) demonstraram o envolvimento de imunoglobulinas da classe das IgG nas reações imunes contra DEA 1.1 e DEA 3, respectivamente. Contudo, ainda são poucos os estudos acerca de quais imunoglobulinas estão envolvidas nas reações transfusionais.

Apesar da ausência de relatos de anticorpos naturais para o sistema DEA 1.1, este é o tipo sanguíneo de maior relevância quanto às reações transfusionais. Indivíduos sensibilizados em transfusões prévias poderão

desenvolver reações hemolíticas graves em uma transfusão incompatível subsequente, devido ao desenvolvimento de altos títulos de anticorpos de ação semelhante à hemolisina contra os antígenos eritrocitários DEA 1 (SYMONS & BELL, 1991; GIBSON, 2007).

No caso de transfusões com sangue incompatível do tipo DEA 1 ocorre hemólise imediata com remoção das hemácias transfundidas em até 12 horas, acarretando em hemoglobinúria e hiperbilirrubinemia (GIGER et al., 1995). A crise hemolítica aguda pode cursar com vasoconstrição, isquemia renal e coagulação intravascular disseminada, além de sinais clínicos de choque (LANEVSCHI & WARDROP, 2001).

Devido à severidade das reações ocorridas em transfusões incompatíveis para DEA 1.1, é extremamente recomendado que o perfil imunológico para DEA 1.1, tanto do doador quanto do receptor, seja previamente descrito ou que, no mínimo, o doador seja negativo para DEA 1.1 (GIBSON, 2007).

As reações transfusionais envolvendo cães DEA 1.2 negativos recebendo transfusões sucessivas de sangue DEA 1.2 positivos também são hemolíticas, porém levam de 12 a 24 para ocorrer e cursam com hemólise extravascular (GIGER et al., 1995; HALE, 1995). Reações envolvendo a sensibilização de cães DEA 1.3 negativos ainda não estão bem documentadas, pois a disponibilização de anti-soro para tipagem ainda é recente e este subtipo foi detectado apenas em cães na Austrália (GIGER, 2005).

A transfusão de plasma incompatível também pode causar reações hemolíticas se o plasma do doador apresentar soro anti-DEA 1 e o receptor apresentar fenótipo DEA 1 positivo, porém se trata de reações hemolíticas brandas. Mais comuns são as reações ocasionadas por outras proteínas presentes no plasma do doador reconhecidas como antígenos por anticorpos presentes no plasma do receptor (LANEVSCHI & WARDROP, 2001)

b. *Dog Erythrocyte Antigen* - DEA 3 e DEA 5

Diferentemente dos tipos DEA 1 e DEA 7, que possuem vários subtipos, os tipos sanguíneos DEA 3 (o antigo tipo B) e DEA 5 (antigo tipo D),

podem codificar para os fenótipos DEA 3 e DEA 5 positivos ou DEA 3 e DEA 5 nulos. A herança genética é autossômica dominante, sendo os fenótipos DEA 3 e DEA 5 positivos dominantes sobre os fenótipos DEA 3 e DEA 5 nulos (ANDREWS & PENEDO, 2010).

Os tipos sanguíneos DEA 3 e DEA 5 possuem menor significado clínico devido a sua baixa frequência de ocorrência sendo, por esse motivo, pouco estudados. As reações transfusionais causadas por incompatibilidade para esses tipos sanguíneos são do tipo imunomediadas tardias, caracterizadas por hemólise extravascular causada pela remoção das hemácias incompatíveis da circulação (HALE, 1995). A perda das hemácias incompatíveis transfundidas ocorre em até cinco dias após a transfusão (EJIMA et al., 1994).

Diferentemente dos animais DEA 1 negativos, que não apresentam anticorpos naturais anti-DEA 1, aproximadamente 20% dos cães negativos para DEA 3 e 10% dos cães negativos para DEA 5 apresentam anticorpos naturais anti-DEA 3 e anti-DEA 5, respectivamente. Por isso, cães positivos para esses tipos não devem ser utilizados como potenciais doadores sanguíneos (HALE, 1995). Os cães da raça Greyhound são considerados bons doadores de sangue devido a seu maior índice cardíaco e à baixa frequência de ocorrência do tipo DEA 1.1 (13%) e alta frequência de ocorrência do tipo DEA 4 (100%). No entanto, animais desta raça também apresentam frequência de ocorrência moderada dos fenótipos DEA 3 (24,8%) e DEA 5 (23%) e, por isso, sua utilização como doadores deve ser cautelosa (HALE, 1995; IAZBIK et al, 2010).

c. *Dog Erythrocyte Antigen* DEA 4

Assim como o DEA 3 e o DEA 5, o tipo DEA 4 (antigo C) não possui subtipos e apresenta unicamente dois fenótipos possíveis, DEA 4 positivo ou DEA 4 nulo. Apesar de apresentar a maior prevalência nos cães entre os tipos sanguíneos, não confere alta antigenicidade o que significa que mesmo cães negativos sensibilizados com hemácias positivas não apresentam hemólise ou

remoção precoce das hemácias transfundidas. Sendo assim, cães positivos exclusivamente para DEA 4 são considerados doadores universais (HALE, 1995; LANEVSCHI & WARDROP, 2001; NOVAIS et al., 2004).

Outra importante característica é que não foi documentada, até o momento, a ocorrência de anticorpos naturais para esse antígeno (GIBSON, 2007). Cães negativos para DEA 4 que são sensibilizados irão produzir altos títulos de anticorpos para este antígeno, porém com grande variação de tempo, entre quatro e 40 dias e, em geral, as reações transfusionais não geram retirada precoce das hemácias circulantes (HOHENHAUS, 2004).

O relato de um cão DEA 4 negativo, sensibilizado por transfusão previa, que desenvolveu reação hemolítica aguda após nova transfusão de sangue DEA 4 positivo revelou que os conceitos acerca da antigenicidade deste grupo, bem como a importância clínica das reações transfusionais após transfusões DEA 4 incompatíveis, devem ser revistos (MELZER et al., 2003).

d. *Dog Erythrocyte Antigen* DEA 7

O sistema DEA 7, ou sistema Tr, pode expressar três fenótipos, o DEA Tr positivo e o DEA O positivo, que apresentam os respectivos antígenos Tr e O na membrana, e o DEA 7 nulo, que não apresenta quaisquer dos dois antígenos na membrana eritrocitária. De forma semelhante ao que ocorre no Sistema DEA 1, apenas um dos antígenos pode ser expresso no mesmo animal, com o DEA Tr positivo mais dominante, seguido do DEA O e, por fim, o DEA 7 nulo (COLLING & SAISON, 1980).

O antígeno responsável pelo tipo sanguíneo DEA 7, ou sistema Tr, é uma proteína solúvel que se adere à superfície dos eritrócitos e não é considerada como antígeno integral da membrana eritrocitária por ser produzida em outro local do organismo, ainda não definido, secretada no plasma e só então adsorvida pela membrana eritrocitária. A ocorrência de anticorpos naturais ainda não está totalmente estabelecida, uma vez que seriam caracterizados por crioaglutininas, que só reagem em baixas temperaturas (HALE, 1995, LANEVSCHI & WARDROP, 2001). Provavelmente

por esse motivo, GIGER et al. (1995) não encontraram anticorpos naturais anti-DEA 7 que reagissem na temperatura corporal em cães DEA 7 negativos. Devido à controvérsia existente é prudente que cães com fenótipo DEA 7 não sejam utilizados como doadores.

De forma semelhante ao que ocorre em cães DEA 3 e DEA 5 negativos e sensibilizados, cães DEA 7 negativos sensibilizados, quando recebem transfusão de sangue incompatível, podem produzir uma reação imune tardia pela produção de aloanticorpos, o que leva a sequestro das hemácias incompatíveis pelo sistema monocítico fagocitário, seguida de hemólise extravascular em até três dias (HALE, 1995). A alta incidência de cães positivos para esse antígeno (45-50%) associada à presença de aloanticorpos naturais, mesmo que em baixas concentrações, são fatores de risco associados a reações transfusionais em cães, mesmo após a primeira transfusão (GIBSON, 2007).

e. *Dog Erythrocyte Antigen* DEA 6 e DEA 8

Os grupos DEA 6 (antigo F) e DEA 8 (antigo He), reconhecidos no segundo workshop sobre imunogenética canina realizado em 1976, não foram mais estudados devido ao insucesso da reprodução de anticorpos policlonais anti-DEA 6 e anti-DEA 8. Kits para tipagem desses grupos sanguíneos não estão disponíveis, o que impossibilita sua detecção na membrana eritrocitária (HALE, 1995; GIGER 2005).

f. Dal

Inicialmente, este tipo sanguíneo foi identificado pela presença de aloanticorpos específicos da família das IgG em alguns cães da raça Dálmata que haviam sido previamente sensibilizados por transfusões sanguíneas incompatíveis. O antígeno apresentou frequência de 100% na população canina geral nos estudos de BLAIS et al. (2007) e KESSLER et al. (2010). Já

nos cães da raça Dálmata BLAIS et al. (2007) encontraram frequência muito menor (16%) para esse antígeno. Anticorpos naturais não foram encontrados em cães negativos que nunca receberam transfusão e a reação transfusional relacionada a este tipo sanguíneo é do tipo hemolítica aguda. Todos os cães da raça Dálmata que já receberam transfusão sanguínea devem receber apenas sangue compatível testado em prova de compatibilidade maior e menor (BLAIS et al., 2007).

g. Sistema Shigeta (SGT)

O sistema SHIGUETA (SGT) é um sistema de grupos sanguíneos de cães composto por nove tipos, com a diferenciação baseada em dois sistemas antigênicos que garantem fácil diferenciação entre tipo e subtipo sanguíneo. Este sistema é independente do sistema DEA e foi adotado no Japão com base em quatro anticorpos monoclonais: d-1, d-2 d-B, d-A, que dão origem aos tipos 1-1A, 1-1B, 1-1AB, 1-2A, 1-2B, 1-2AB, 1(-)A, 1(-)B e 1(-)AB (OGNEAN et al., 2006).

Segundo esse sistema, existe vasta dominância do tipo B, com alta frequência (45,7%) do subtipo 1-1B. Semelhante ao observado no sistema DEA, parece haver maior frequência de tipo sanguíneo segundo a raça dos cães, como é o caso do Pastor Alemão e do Bulldog Inglês, que apresentaram frequência de sangue tipo 1(-)B de 50%. O Pastor Alemão é considerado um bom doador já que esta raça apresenta alta frequência de cães 1(-)B e a população tem alta frequência de cães tipo B. Quando usado o sistema DEA, esses cães apresentam também alta incidência de DEA 1 negativos aumentando ainda mais o potencial de doadores de cães dessa raça (OGNEAN, 2007; OGNEAN et al., 2008).

Até o momento apenas o sistema SGT A apresentou correlação com o Sistema DEA, sendo este o grupo SGT A que equivale ao DEA 3. Ademais, pouco é definido quanto a frequência desses grupos sanguíneos ou mesmo quanto a bioquímica molecular desses antígenos eritrocitários (GIGER et al., 2005).

2.1.3 Frequência fenotípica

A distribuição geográfica dos diferentes grupos sanguíneos varia de acordo com a localização geográfica e com a raça dos cães. Estudos sobre a frequência dos antígenos da membrana eritrocitária de cães são restritos, principalmente devido à ausência de anticorpos naturais e à restrita disponibilidade de reagentes de tipificação comercialmente disponíveis (GIGER et al., 1995).

MARQUES (2010) estudou a frequência fenotípica de antígenos eritrocitários de cães em diversos países e constatou ampla variação geográfica (Tabela 2).

Tabela 2 - Frequência dos antígenos eritrocitários em cães de raça indeterminada em diversos países.

Grupo Sanguíneo – Sistema DEA	Maior frequência	Menor frequência
DEA 1.1	72,7% (Japão)	23,4% (Austrália)
DEA 1.2	42% (São Paulo)	4% (Holanda)
DEA 3	24% (Japão)	5% (Holanda)
DEA 4	98,4% (EUA)	56% (Holanda)
DEA 5	22,3% (EUA)	8% (Holanda e São Paulo)
DEA 6	99,4% (EUA)	60% (Japão)
DEA 7	82% (EUA)	8% (EUA)
DEA 8	45% (EUA)	16,8%

FONTES: Adaptado de MARQUES, 2010.

No Brasil os estudos ainda são escassos, porém comparando-se as frequências dos grupos sanguíneos entre os estados de São Paulo e Rio Grande do Sul (Tabela 3) é possível observar que, embora com variabilidade menor do que a observada entre países, não há uma frequência homogênea quanto aos antígenos eritrocitários em cães (NOVAIS et al., 2002; NOVAIS et al., 2004; ESTEVES et al., 2011).

Tabela 3- Frequência de tipos sanguíneos em cães em dois Estados brasileiros.

Grupo Sanguíneo - Sistema DEA	São Paulo ¹		Rio Grande do Sul ²
	Pastor Alemão	Mestiços	
DEA 1.1	64%	57%	61%
DEA 1.2	36%	41%	22%
DEA 3	8%	19%	9%
DEA 4	100%	93%	100%
DEA 5	14%	7%	10%
DEA 7	8%	11%	17%

FONTE: Adaptado de ¹NOVAIS et al., 2004; ²ESTEVEES et al., 2011.

Quanto à frequência fenotípica, ou seja, de todos os antígenos presentes na membrana eritrocitária, NOVAIS et al. (2002) encontraram a associação dos tipos DEA 1.1 e DEA 4 como a mais comum, com frequências de 46% e 35% em cães da raça pastor alemão e cães mestiços, respectivamente; seguida da associação dos tipos DEA 1.2 e DEA 4, com frequências de 26% e 32,5%, nessas mesmas raças, respectivamente.

ESTEVEES et al. (2011) também encontraram maior frequência da associação dos tipos DEA 1.1 e DEA 4 (47%) seguida da associação dos tipos DEA 1.2 e DEA 4 (17%) na população geral de cães. Foi observada predominante associação dos tipos DEA 1.2 e DEA 4 em cães das raças Dogo Argentino (60%) e Pastor Alemão (25%). Nas demais raças estudadas, Rottweiler (85%), Golden Retriever (65%) e Dogue Alemão (75%) houve maior frequência da associação dos tipos DEA 1.1 e DEA 4.

O sistema DEA 1.1 é o mais extensamente estudado em cães por ser o tipo sanguíneo mais antigênico e responsável pela ocorrência de reações hemolíticas graves quando animais previamente sensibilizados recebem nova transfusão incompatível (HOHENHAUS, 2004; GIBSON, 2007). Por isso, grande parte dos estudos de frequência de tipos sanguíneos de cães busca apenas estudar esse tipo sanguíneo. Os estudos atuais vêm mostrando que a frequência da população canina em geral apresenta porcentagem semelhante entre cães DEA 1.1 positivos e nulos em diversos países (Tabela 4). A única exceção foi um estudo feito na Croácia, porém todos os cães do estudo eram

da raça Pastor Croata. Esse dado aumenta a necessidade de determinação do estado imunológico para esse tipo sanguíneo em cães previamente a cada transfusão.

Tabela 4 - Frequência de antígenos eritrocitários da população canina geral nos Estados Unidos da América e em outros países.

País	DEA 1.1	DEA 1.2	DEA 3	DEA 4	DEA 5	DEA 7	Dal
EUA ¹	-	-	-	-	-	-	100%
EUA ²	60,6%	0	20,8%	100%	20%	41,3%	-
EUA ³	43-58%	-	10,6%	100%	-	22,6%	100%
EUA ⁴	55,9%	-	-	-	-	-	-
Portugal ⁵	51,72	-	-	-	-	-	-
Suiça ⁶	53%	-	-	-	-	-	-
África do Sul ⁷	47%	-	-	-	-	-	-
Croácia ⁸	90%	-	-	-	-	-	-

FONTE: Adaptado de ¹BLAIS et al., 2007; ²IAZBIK et al., 2010; ³KESSLER et al., 2010 (testes pelo método de tubos); ⁴LUCIDI, 2007; ⁵MARQUES, 2010; ⁶RIOND et al., ⁷2011; VAN DER MERWE, 2002; ⁸ZUBCIC' et al., 2008.

2.2 Gatos

A definição de grupo sanguíneo para gatos é a mesma que a de cães, ou seja, trata-se da presença, na membrana dos eritrócitos, de antígenos polimórficos e espécie-específicos que são detectados em reações imunes que utilizam anticorpos (REID & WESTHOFF, 2007).

Existe apenas um sistema sanguíneo internacionalmente reconhecido em gatos, o AB. Dentro deste sistema os gatos podem apresentar sangue dos tipos A, B ou AB expressos pelos genótipos (ANDREWS et al., 1992). Devido aos relatos da ocorrência de reações transfusionais em animais que receberam sangue compatível com o tipo AB, é possível que os gatos tenham outros tipos sanguíneos diferentes que não os do sistema AB

(WEIGART et al., 2004). De fato, um novo tipo sanguíneo, denominado Mik, foi detectado em felinos com relato de reações hemolíticas graves após transfusões que apesar de compatíveis para o sistema AB, eram incompatíveis para esse tipo sanguíneo (WEINSTEIN et al., 2007).

O mecanismo enzimático da formação dos tipos sanguíneos A e B, já foi bem definido. Os grupos são determinados pela presença de diferentes resíduos do Ácido Neuramínico (AN) na membrana dos eritrócitos felinos. Gatos do tipo A apresentam como resíduo principal do AN o ácido N-gliconeuramínico (Neu5Gc) e pequena quantidade de ácido N-acetilneuramínico (Neu5Ac). Já os gatos do tipo B apresentam apenas Neu5Ac na superfície dos eritrócitos, uma vez que são incapazes de converter o Neu5Gc em Neu5Ac. Os gatos do tipo AB apresentam tanto Neu5Gc quanto Neu5Ac em quantidades semelhantes, mas foi sugerido que esses animais ou apresentam menor quantidade de sítios de ligação para os anticorpos anti-A e anti-B ou esses sítios não estão presentes na membrana eritrocitária (ANDREWS et al., 1992; GRIOT-WENK et al., 1996; BIGHIGNOLI et al., 2007).

Estudos sobre a tipagem sanguínea de gatos domésticos vêm sendo feitos em diversos locais do mundo. A principal importância da determinação da tipagem sanguínea está relacionada à prevenção da isoeritrólise neonatal e das reações hemolíticas agudas. É de extrema relevância considerar que existe ampla variação dos tipos sanguíneos entre as diversas raças de gatos (ARIKAN et al., 2003).

A isoeritrólise neonatal ocorre quando filhotes tipo A ou AB nascem de fêmeas tipo B. A reação de incompatibilidade ocorre porque os anticorpos naturais anti-A da fêmea passam pelo colostro e leite para os filhotes durante a primeira semana de vida, causando a destruição de eritrócitos que apresentem antígeno A ou AB na membrana. Por esse motivo, os filhotes morrem logo nos primeiros dias de vida (GIGER, 2009). SILVESTRE FERREIRA & PASTOR (2010) concluíram que apesar de a isoeritrólise neonatal ser rara possui alta taxa de mortalidade. A melhor forma de prevenção é a tipagem sanguínea dos progenitores, principalmente daqueles de raças com alta frequência de fenótipo B. Quando é necessário que se faça o cruzamento de progenitores incompatíveis, os filhotes devem ser retirados do contato com as fêmeas

progenitoras e a alimentação deve ser realizada com colostro e leite de gatas compatíveis.

2.2.1 Genética

Os gatos apresentam apenas um grupo sanguíneo (AB) bem determinado. Os antígenos eritrocitários são determinados por alelos distintos que ocupam o mesmo *locus*, sendo a transmissão genética, assim como nos cães, determinada segundo o padrão autossômico mendeliano. O alelo A é dominante sobre o alelo B, sendo este último sempre homozigoto recessivo. Os gatos podem apresentar três fenótipos, o tipo A, tipo B e o tipo AB positivos, sendo que não existe relato do fenótipo nulo para este sistema (GIGER et al., 1991). A transmissão do tipo AB ainda não foi totalmente determinada, porém foi sugerido que o antígeno eritrocitário AB está presente apenas em populações, ou raças, que apresentem indivíduos com fenótipo B. Já foi determinado, também, que a ocorrência do fenótipo AB não está relacionada com co-dominância nem com quimerismo (ANDREWS et al., 1992; GRIOT-WENK et al., 1996).

O tipo A apresenta baixa titulação de aloanticorpos naturais anti-B, sendo estes anticorpos da família das IgM. A baixa titulação de aloanticorpos leva à formação de aglutinação macroscópica em sangue incompatível em aproximadamente um terço dos casos. Entretanto, é sempre necessária a observação microscópica para ter certeza que não há microaglutinação, garantindo que o sangue é compatível. Gatos do tipo B apresentam alta titulação de aloanticorpos naturais anti-A, compostos principalmente por imunoglobulinas da família das IgM. Por essa razão, gatos tipo B que recebem sangue tipo A apresentam reações hemolíticas agudas mais importantes do que gatos tipo A que recebem sangue do tipo B. Anticorpos provenientes do colostro podem ser detectados nos filhotes após quatro horas do nascimento, mas os filhotes irão produzir os próprios anticorpos após seis a oito semanas do nascimento (BUCHLER & GIGER, 1993). A ocorrência natural desses aloanticorpos é que determina a ocorrência de reações transfusionais em gatos nunca sensibilizados e a ocorrência de isoeritrólise neonatal em gatos

incompatíveis. Gatos AB positivos não apresentam isoanticorpos anti-A nem anti-B (GURKAN et al., 2005; LACERDA et al., 2011).

A ocorrência de anticorpos naturais na espécie felina é atribuída à exposição a epítomos (menor parte de um antígeno capaz de estimular uma resposta imunológica) estruturais de organismos como plantas e bactérias, que se assemelham aos antígenos eritrocitários da espécie (BUCHELER & GIGER, 1993; WEINSTEIN et al., 2007). Por outro lado, foi mostrado que uma porcentagem variável de gatos tipo A não apresentam titulação suficiente para desencadear reação hemolítica, ou mesmo não apresentam anticorpos anti-B circulantes (KNOTTELBELT et al., 1999b).

O tipo sanguíneo AB ainda apresenta divergência quanto a sua origem genética. GRIOT-WENK et al. (1996) demonstraram, a princípio, que se trataria de um terceiro alelo do grupo sanguíneo AB, apresentando dominância intermediária entre o alelo A e o B. Contudo, ao cruzarem um macho e uma fêmea do tipo A homozigotos, houve o nascimento de filhotes dos três tipos sanguíneos. Assim, o tipo AB não é determinado por codominância entre os tipos do grupo AB, e o tipo de transmissão genética ainda não está definido (ANDREWS et al., 1992). Na teoria de BIGHIGNOLI et al. (2007) se propõe a existência de um terceiro alelo (a^{ab}) recessivo ao alelo A e codominante ao alelo B que permitiria a expressão de ambos antígenos eritrocitários, dando origem ao tipo AB. Todavia, é preciso que o gato tipo A apresente o alelo AB para que haja um descendente de fenótipo AB. Nesse sistema os possíveis genótipos seriam AA (fenótipo A), Aa^{ab} (fenótipo A), Ab (fenótipo A), $a^{ab}b$ (fenótipo AB), $a^{ab}a^{ab}$ (fenótipo AB) e bb (fenótipo B).

A probabilidade de ocorrência de reações transfusionais graves após uma transfusão de sangue sem ter realizado tipagem ou teste de compatibilidade depende da frequência de tipos sanguíneos na população felina local e da titulação de anticorpos que cada tipo sanguíneo apresenta. Estudo feito quanto a titulação de anticorpos para os antígenos eritrocitário no Reino Unido (KNOTTELBELT et al., 1999) mostrou que a titulação de anticorpos não depende da raça, mas sim do tipo sanguíneo, ficando claro que transfusões sanguíneas em gatos sem tipagem previa apresentam alto risco de reações transfusionais (Tabela 5).

Tabela 5 - Frequência de eventos clinicamente significativos após transfusões de sangue incompatível em gatos.

Tipo sanguíneo do doador	Tipo sanguíneo do receptor	% de reações hemolíticas agudas graves	% de reações hemolíticas agudas leves	Destruição precoce de hemácias	Indução de formação de anticorpos
A	B	32,5	65	2,5	Naturais
AB	B	32,5	65	2,5	Naturais
AB	A	0	4,9	67,2	27,9%
B	AB	0	0	0	0
A	AB	0	0	0	0
B	A	0	4,9	67,2	27,9%

FONTE: KNOTTENBELT et al. (1999b).

2.2.2 Frequência fenotípica

Além da variação dos tipos sanguíneos entre as raças, a frequência fenotípica em gatos varia amplamente segundo a localização geográfica. MARQUES (2010) fez um levantamento de estudos sobre a frequência dos fenótipos em gatos e relatou que existe alta frequência de gatos sem raça definida e de pêlo curto do tipo A, porém com variação segundo a localização geográfica. Os fenótipos B e AB foram encontrados menos comumente, mas também com variação de frequência segundo a raça e localização geográfica (Tabela 6).

A frequência de tipos sanguíneos em gatos de raças puras não é influenciada pela sua localização geográfica, e isso é atribuído à venda de gatos de raças puras internacionalmente (GIGER, 2009).

As raças de gatos de origem turca Van Turco e Angorá têm mostrado maior frequência de tipo B (ARIKAN et al., 2003). Essa alta frequência pode ser associada à elevada miscigenação genética e ao alto índice de gatos heterozigotos observada por LIPINSK et al. (2007). Em outras raças como Siameses, Pêlo Curto Britânico e o Devon rex, a frequência do tipo B pode variar de zero a 40% (GIGER, 2009). Por outro lado, o fenótipo AB é considerado raro independente da região geográfica e da raça, apresentando

frequência menor de 5%, tanto em gatos sem raça definida quanto em gatos de raças puras (KNOTTENBELT et al., 1999; ARIKAN et al., 2003; FORCADA et al., 2007).

Tabela 6 - Frequência de tipos sanguíneos do sistema AB da população geral de gatos em diferentes países.

País	Tipo A	Tipo B	Tipo AB
Portugal ¹	97,4%	2,23%	0,37%
EUA ²	99,6%	0,41%	0%
Turquia ³	73%	24,6%	2,4%
Reino Unido ⁴	67,6%	30,5%	1,9%
Austrália ⁵	62%	36%	1,6%
Itália ⁶	90,7%	7,1%	2,1%
China ⁷	88,2%	11,4%	0,4%

FONTE: Adaptado de ¹MARQUES, 2010; ²GIGER et al., 1989; ³ARIKAN et al., 2006; ⁴FORCADA et al., 2007; ⁵MALIK et al., 2005; ⁶PROVERBIO et al., 2011; ⁷ZHENG et al., in press.

É importante ressaltar que o objetivo da transfusão sanguínea é providenciar ao doador hemácias viáveis pelo maior período possível, e qualquer reação no receptor que leve à remoção precoce dessas hemácias é considerada uma reação transfusional. Devido à variação importante na frequência de tipos sanguíneos entre as raças a transfusão de sangue sem tipagem, ou ao menos teste de compatibilidade, mostra ser de grande risco de reação transfusional para os receptores (KNOTTENBELT et al., 1999; KNOTTENBELT et al., 1999b). É provável que gatos provenientes do Reino Unido, da Austrália ou de origem turca apresentem maior risco de reações transfusionais visto a alta frequência de gatos tipo B nessas populações (KNOTTENBELT et al., 1999; ARIKAN et al., 2003; MALIK et al., 2005).

Estudos feitos no Brasil quanto à frequência de tipos sanguíneos de gatos sem raça definida mostram que, apesar de também haver variação quanto à região estudada, existe alta frequência de gatos com tipo sanguíneo A (LACERDA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2008 (Tabela 7).

Tabela 7 - Frequência dos tipos sanguíneos do Sistema AB de gatos sem raça definida em diferentes regiões do Brasil.

Tipos sanguíneos	Porto Alegre	Goiânia	Rio de Janeiro
A	97%	85,72%	94,8%
B	3%	14,28%	2,9%
AB	0%	0%	2,3%

FONTE: Adaptado de LACERDA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2008; SILVA, 2011.

A maioria dos gatos doadores de sangue deve ser tipo A, mas é importante que hajam gatos doadores tipo B e AB disponíveis para doação de sangue. É importante também conhecer o tipo sanguíneo de todos os gatos doadores, já que não existem doadores universais nesta espécie (GIGER, 2009).

2.3 Métodos de tipagem sanguínea e testes de compatibilidade

WARDROP et al. (2005) abordaram a necessidade de uma criteriosa triagem dos doadores de sangue para doenças infecciosas e traçaram diretrizes sobre quais exames devem ser feitos para a seleção dos cães e gatos doadores. Porém, a real necessidade de se determinar o tipo sanguíneo do doador, bem como de promover os testes de compatibilidade é discutida, e ainda não há consenso. O objetivo de promover a tipagem sanguínea e os testes de compatibilidade é prevenir a transfusão de hemácias incompatíveis que podem causar reações transfusionais imunomediadas graves que põem em risco a vida do paciente. A utilização de transfusão sanguínea é controversa tanto na medicina quanto na veterinária, sendo que a decisão da sua utilização ou não é baseada na avaliação clínica, e por isso deve ser o mais segura possível (TOCCI & EWING, 2009).

É recomendado que os testes de tipagem e compatibilidade sanguíneas sejam realizados previamente a todas as transfusões sanguíneas,

tanto em cães quanto em gatos, para maximizar o tempo de meia-vida das hemácias transfundidas, minimizar a ocorrência de reações transfusionais, prevenir a sensibilização de cães e a ocorrência de isoeritrólise neonatal, principalmente em gatos (GIGER et al., 1995; LANEVSCHI & WARDROP, 2001; LACERDA et al., 2011).

Para aumentar a eficácia e segurança das transfusões sanguíneas, tanto o doador quanto o receptor devem ter o tipo sanguíneo determinado previamente. No caso dos cães ainda existe divergência quanto à extensão (número de grupos que serão pesquisados) e aos métodos utilizados para realização de testes de tipagem sanguínea. Diversas técnicas estão sendo desenvolvidas e aplicadas tanto em laboratórios clínicos quanto nas clínicas e hospitais (GIGER, 2005; GIGER, 2009), todavia é sabido que a tipagem sanguínea e os teste de compatibilidade são provas complementares e, sempre que possível, devem ser associados (HALE, 1995).

Para que os testes possam ser feitos com maior eficácia é necessário que as amostras de sangue sejam colhidas adequadamente. Em humanos, a principal causa de reações hemolíticas agudas pós-transfusionais é a falha na identificação das amostras. As amostras não identificadas ou mal identificadas devem ser descartadas e novas amostras devem ser colhidas e identificadas adequadamente. É importante, também, que a técnica de punção seja apropriada para evitar a ocorrência de hemólise. Para obter amostras de bolsa de sangue para os testes, devem ser utilizadas alíquotas provenientes do equipo de colheita e não deve ser retirado sangue da bolsa de colheita, para evitar a contaminação no interior da bolsa (TOCCI & EWING, 2009).

Alguns fatores devem ser levados em consideração quando amostras de sangue são colhidas para a execução de testes de compatibilidade. É recomendado que as amostras de sangue do receptor para os testes de tipagem e compatibilidade sanguínea não tenham mais que três ou quatro dias de colhidas para refletirem o estado imunológico do paciente com precisão por ser esse o tempo que o organismo leva para produzir anticorpos contra antígenos eritrocitários (TOCCI & EWING, 2009). Isso pode ser aplicado em animais que receberam transfusões prévias e, por tanto, foram sensibilizados, podendo apresentar testes de compatibilidade negativos no dia um, mas positivos depois de três ou mais dias. BLAIS et al. (2009) observaram

que a prenhez em cadela não é um fator de risco potencial na seleção de doadores de sangue visto que não foi encontrado indícios de que a prenhez sensibilize as cadelas, e assim não há produção de anticorpos a antígenos eritrocitários. Esse estudo afirma que fêmeas caninas não nulíparas podem ser utilizadas com segurança como doadores de sangue.

2.3.1 Testes de tipagem

Para os testes de tipagem sanguínea o sangue total deve ser colhido e acondicionado em tubos com anticoagulante, preferencialmente EDTA. O princípio de todos os métodos utilizados para tipagem sanguínea na medicina veterinária é a visualização de reações de hemoaglutinação entre os antígenos da superfície das hemácias e um reagente contendo antisoro mono ou policlonal específico. As técnicas sorológicas utilizadas em medicina veterinária incluem o método em tubos, o cartão e a coluna de gel. Os cartões para tipagem sanguínea de cães e gatos foram disponibilizados na década de 90. Eles contêm reagente liofilizado na superfície que é reconstituído com o diluente específico (TOCCI & EWING, 2009).

O primeiro método a ser desenvolvido foi o RapidVet® (Figura 2 A), Laboratório DMS, Flemington, NJ, EUA, que determina se o sangue do cão é positivo ou não para DEA 1.1, contudo pode ocorrer reação cruzada e aglutinação em sangue DEA 1.2. O mesmo laboratório disponibiliza cartões para tipagem de sangue de gatos (Figura 2-B). Mais recentemente, um laboratório de Lion, na França (Alvedia, Lion, França) desenvolveu um método rápido de determinação de sangue tipo DEA 1.1 de cães (Figura 3 A) e dos três tipos de sangue em gatos (Figura 3 B), com interpretação mais simples e com menor margem de erro (GIGER, 2005).

Devido à alta antigenicidade do antígeno DEA 1.1, a determinação do status sorológico principalmente do doador para esse antígeno é extremamente recomendada, e sempre que possível o receptor deve ter seu tipo sanguíneo determinado para evitar que sangue DEA 1.1 negativo seja utilizado em cães DEA 1.1 positivos (GIGER, 2009).

Atualmente estão disponíveis no mercado três testes para tipagem de sangue DEA 1.1 de cães e do sistema AB de gatos. O Animal Blood Resources International (Stockbridges, MI, EUA) disponibiliza testes para tipagem de sangue de cães DEA 1.1, 3, 4, 5 e 7 (Teste MSU) (KESSLER et al., 2010).

O Teste MSU utiliza reagentes contendo anticorpos policlonais conhecidos contra os antígenos eritrocitários anti-DEA 1.1, anti-DEA 3, anti-DEA 4, anti-DEA 5 e anti-DEA 7. A amostra de sangue total do doador e do receptor com anticoagulante é centrifugada, o plasma é separado e as hemácias são resuspendidas em solução tampão fosfato (PBS) a 5% (50µL de papa de hemácias em 1000µL de PBS). Os testes são feitos pela adição da suspensão de hemácias 5% ao reagente policlonal conhecido. A solução obtida é então incubada durante 15 minutos a 37°C para detecção de DEA 1.1 ou é incubada a 4°C durante 30 minutos para detecção dos outros tipos sanguíneos. Após a incubação, as amostras são centrifugadas durante 15 segundos para posterior leitura e interpretação dos resultados segundo o grau de aglutinação (Tabela 8). (ESTEVES, 2011 b). Nos casos de resultados com interpretação duvidosa, pode ser adicionado reagente de Coombs canino na solução de hemácias a 5% e o teste é refeito. O reagente de Coombs é um reagente que contém anti-imunoglobulinas (anti-IgG) que se ligam aos anticorpos do reagente promovendo aglutinação exuberante (WARDROP, 2005).

Tabela 8 - Esquema para leitura e interpretação dos resultados obtidos em tipagem sanguínea feita pelo método MSU.

Resultado de aglutinação	Descrição	Interpretação
Negativo (-)	Nenhuma reação (animal negativo para o sorotipo testado)	Negativo
Uma cruz (+1)	Vários grumos pequenos em sobrenadante avermelhado	Negativo
Duas cruzes (+2)	Vários grupos um pouco maiores em sobrenadante ligeiramente avermelhado	Positivo
Três cruzes (+3)	Um grupo médio e alguns grumos pequenos em sobrenadante quase límpido	Positivo
Quatro cruzes (+4)	Um único grupo grande em sobrenadante límpido	Positivo

FONTE: ESTEVES, 2011b.

Como alternativa, está disponível o teste de tipagem sanguínea de aglutinação em coluna de gel. São microtubos com o reagente suspenso em partículas de gel que agem como filtro. Após a suspensão das hemácias, a amostra acrescida do diluente, fornecido pelo fabricante, é incubada a temperatura ambiente por dez minutos. Os lacres dos testes são removidos e as amostras, acrescidas do diluente, são adicionadas aos microtubos e submetidas à centrifugação durante dez minutos em centrífuga específica para o teste. Após a centrifugação, os resultados são avaliados e interpretados (Figura 4). O princípio do teste é a visualização de hemoaglutinação, sendo que as células que não sofrem aglutinação passam pelo gel presente na superfície do tubo, enquanto as células que sofrem aglutinação permanecem suspensas no gel (GIGER et al., 2005; TOCCI & EWING, 2009).

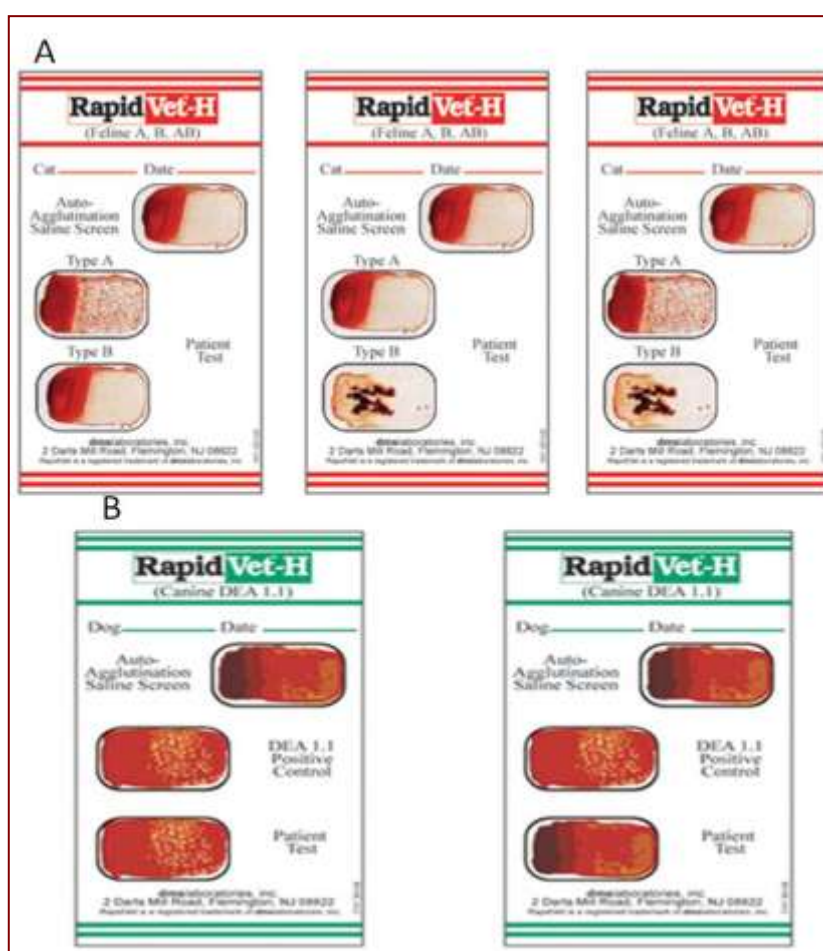


Figura 2 - Método de cartão de tipagem sanguínea para sistema AB de gatos (A) e para o grupo sanguíneo DEA 1.1 de cão (B).

FONTE: www.nordep.com.cn/html/cpzs/bloodtype

As vantagens do teste de coluna de gel sobre os testes de cartão são que os resultados são mais facilmente visualizados e interpretados, além da hemoaglutinação permanecer visível por mais tempo (Figura 5), podendo ser revista posteriormente ou mesmo interpretada por diversas pessoas. A principal desvantagem do teste é o custo de implantação pois é necessário que uma centrífuga específica seja obtida (TOCCI & EWING, 2009).

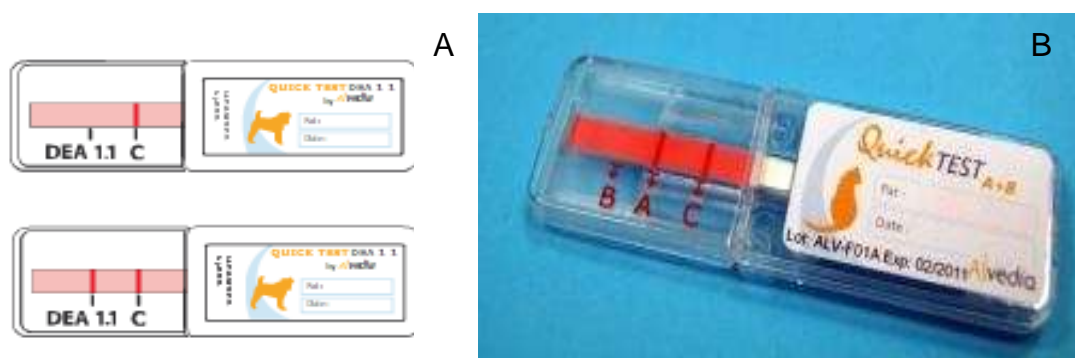


Figura 3 – Método de tipagem sanguínea baseado em anticorpos monoclonais para o grupo sanguíneo DEA 1.1 de cães (A) e para o sistema AB de gatos (B).

FONTE: Adaptado de www.alvedia.com/

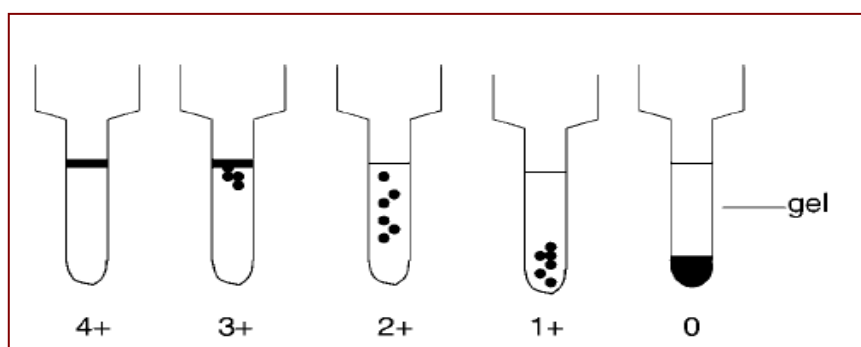


Figura 4 – Interpretação dos resultados obtidos em teste de tipagem sanguínea ou de compatibilidade por aglutinação em coluna de gel.

FONTE: WARDROP, 2005

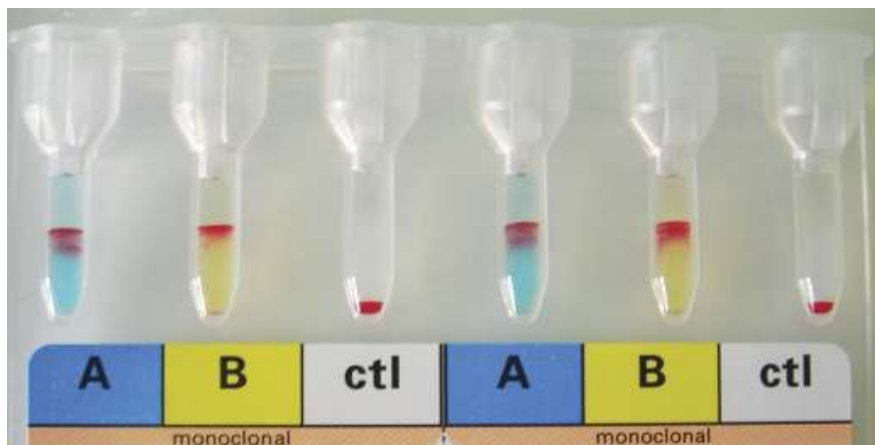


Figura 5 – Teste de tipagem sanguínea de gato por aglutinação em coluna de gel.

FONTE: PROVERBIO et al., 2011

2.3.2 Teste de compatibilidade

Os testes de compatibilidade sanguínea não determinam o tipo de sangue do doador ou do receptor, mas avaliam a compatibilidade sorológica, ou seja, avaliam a existência de anticorpos anti-eritrocitários incompatíveis e que apresentem significância clínica. A principal importância de se realizar o teste de compatibilidade é que a tipagem sanguínea não previne reações adversas agudas ou tardias resultantes da presença de anticorpos contra antígenos ainda não descritos (GIGER, 2009; MARQUES, 2010).

É importante ressaltar que o teste apresenta baixa sensibilidade em cães que estão recebendo a primeira transfusão, pois estes não apresentam anticorpos naturais e dificilmente irão apresentar aglutinação, o que não significa que eles sejam compatíveis (LANEVSKI & WARDROP, 2001).

O teste de compatibilidade é dividido em duas provas, a maior e a menor (Tabela 9). A prova maior testa anticorpos do plasma do receptor contra as hemácias do doador, e a prova menor testa anticorpos do plasma do doador contra as hemácias do receptor. As reações de aglutinação podem ser aumentadas se adicionadas de reagente de Coomb's (GIGER, 2009). A interpretação dos resultados deve considerar tanto a aglutinação quanto a presença de hemólise, em relação ao controle, com avaliação macroscópica

seguida de avaliação microscópica com aumento de 100 e 400 vezes. A presença de qualquer uma das reações mostra que existe incompatibilidade sanguínea entre o doador e o receptor: reação presente na prova maior mostra que o receptor possui anticorpos contra as hemácias do doador, já reação presente na prova menor mostra que o doador possui anticorpos contra as hemácias do receptor (LANEVSCHI & WARDROP, 2001).

Tabela 9 - Esquema para proceder o teste de compatibilidade com prova maior e prova menor.

Etapa	Descrição
1	Centrifugação da amostra de sangue total e separação do plasma e do concentrado de hemácias (CH).
2	Lavagem do concentrado de hemácias obtido: resuspensão de 0,25mL de CH em 2-4mL de solução salina seguida de centrifugação e posterior remoção do sobrenadante. Repetir este procedimento três vezes.
3	Resuspender 0,1-0,2mL do CH lavado em 4,8 mL de solução salina para obter uma amostra com hemácias entre 2 e 4%.
4	Identificar três tubos: prova maior, prova menos e controle.
5	Incubar as amostras durante 15 minutos a 37°C
6	Centrifugar durante 15 segundo
Prova maior	Duas gotas do plasma do receptor com uma gota da solução de hemácias lavadas do doador
Prova menor	Uma gota da solução de hemácias do receptor com 2 gotas do plasma do doador.
Controle	Uma gota da solução de hemácias lavadas do receptor com duas gotas de plasma do receptor, e o mesmo é feito com as amostras do doador.

Fonte: Adaptado de LANEVSCHI & WARDROP, 2001.

O teste de Coombs, ou teste de antiglobulina, é utilizado para detectar anticorpos e complemento na membrana das hemácias. Ele pode ser utilizado de duas formas: o teste direto, que detecta a presença de imunoglobulinas ou complementos ligados à superfície das hemácias; e o teste indireto, que detecta a presença de anticorpos contra antígenos da membrana

das hemácias que ficaram suspensas no plasma. O teste Coomb's indireto é a forma utilizada nos teste de compatibilidade pois é capaz de detectar os anticorpos que, apesar de sensibilizar as hemácias não promoveram aglutinação (WARDROP, 2005).

Assim como os testes de tipagem sanguínea, testes de compatibilidade em coluna de gel estão disponíveis comercialmente (DiaMed, Suíça) e mostraram ser simples e sensíveis, além de apresentarem boa padronização para processamento e interpretação. Por isso, é considerado um método de qualidade superior comparado ao método de tubo convencional (SWARUP et al., 2007; KESSLER et al., 2010).

A interpretação do exame em pacientes anêmicos deve ser cautelosa pois pode ocorrer o efeito prozona causado pela baixa concentração de hemácias, e conseqüentemente de antígenos de membrana, em relação a concentração de anticorpos poli ou monoclonais dos reagentes. Essa diferença de concentração leva à formação de complexos antígeno-anticorpo pequenos, e dessa forma a hemoaglutinação pode não ser evidenciada. Nesses casos, a amostra de sangue total deve ser centrifugada, parte do plasma retirado e após nova homogeneização da amostra é que o teste é feito (GIBSON, 2007).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A otimização da segurança na medicina transfusional envolve, além do uso de componentes sanguíneos de qualidade, a manutenção da integridade do processo de transfusão, desde a colheita no doador até a avaliação após a transfusão no receptor. A principal forma de assegurar que a transfusão será bem sucedida é pelo uso de testes de tipagem e compatibilidade sanguínea, evitando que haja diminuição da meia vida das hemácias transfundidas.

Até o momento não existe um consenso sobre um doador universal para cães, e os doadores devem ao menos ter o estado sorológico para DEA 1.1 determinado previamente à doação e, quando possível, o mesmo deve ser feito no receptor.

Em cães, a ausência de aloanticorpos naturais clinicamente relevantes diminui a necessidade de extensa busca por produtos sanguíneos compatíveis para a primeira transfusão, não obstante o risco de sensibilização pode apresentar grande impacto a longo prazo, principalmente se o paciente precisar de nova transfusão. Não há dúvidas de que em animais que receberam transfusões prévias os riscos associados à uma nova transfusão sanguínea devem ser identificados por meio de teste de compatibilidade.

Todos os gatos devem ter o tipo sanguíneo determinado ou ao menos o teste de compatibilidade previamente a cada transfusão, devido à presença de anticorpos naturais aos antígenos de membrana eritrocitária. É necessário que atenção a mais seja dada às fêmeas destinadas a reprodução, principalmente das raças com maior frequência de gatos com sangue tipo B e AB, minimizando assim o risco de isoeitrolise neonatal.

Por se tratarem de testes ainda onerosos para a prática de muitos clínicos, as provas de tipagem sanguínea devem, no mínimo, serem substituídas pelos testes de compatibilidade previamente a cada transfusão sanguínea, tendo como objetivo minimizar o risco de reações hemolíticas transfusionais graves e retirada precoce das hemácias da circulação.

REFERÊNCIAS

1. ANDREWS, G.A.; CHAVEY, P.S.; SMITH, J.E.; RICH, L. N-Glycolylneuraminic acid and N-Acetylneuraminic acid define feline blood group A and B antigens. **Blood Journal**, Washington, v.79, n.9, p.2485-2491, 1992.
2. ANDREWS, G. A.; PEDENO, M.C. Erythrocyte antigens and blood groups. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Veterinary Hematology**. 6ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. seq 8, cap 92, p. 711-724.
3. ARIKAN, S.; DURU, S.Y.; GURKAN, M.; AGAOGLU, Z.T.; GIGER, U. Blood Type A and B Frequencies in Turkish Van and Angora Cats in Turkey. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, Berlin, v.50, n.6, p.303-306, 2003.
4. ARIKAN, S.; GURKAN, M.; OZAYTEKIN, E.; DODURKA, T.; GIGER, U. Frequencies of blood type A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Turkey. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.47, n.2, p.10-13, 2006.
5. BLAIS, M.C.; BERMAN, L.; OAKLEY, D.A.; GIGER, U. Canine *Dal* blood type: a red cell antigen lacking in some Dalmatians. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v.21, n.2, p.281-286, 2007.
6. BLAIS, M-C.; ROZANSKI, E.A.; HALE, A.S.; SHAW, S.P.; COTTER, S.M. Lack of evidence of pregnancy-induced alloantibodies in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v.23, n.3, p.462-465, 2009.
7. BIGHIGNOLI, B.; NIINI, T.; GRAHN, R.A.; PEDERSEN, N.C.; MILLON, L.V.; POLLI, M.; LONGERI, M.; LYONS, L.A. Cytidine monophospho-N-acetylneuraminic acid hydroxylase (CMAH) mutations associated with the domestic cat AB blood group. **BMC Genetics**, Londres, v.8, n.26, 10 p., 2007.

8. BUCHELER, J.; GIGER, U. Alloantibodies against A and B blood types in cats. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.38, n.3-4, p.283-295, 1993
9. CASTELLANOS, I.; COUTO, C.G.; GRAY, T.L. Clinical use of blood products in cats: a retrospective study (1997 – 2000). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v. 18, p. 529-532, 2004.
10. CORATO, A.; MAZZA, G.; HALE, A.S.; BARKER, R.N.; DAY, M.J. Biochemical characterization of canine blood group antigens: immunoprecipitation of DEA 1.2, 4 and 7 and identification of a dog erythrocyte membrane antigen homologous to human Rhesus. **Veterinary immunology and immunopathology**, Amsterdam, v.59, n.3-4, p.213-223, 1997.
11. COLLING, D.T.; SAISON, R. Canine blood groups. 2. Description of a new allele in the Tr blood group system. **Animal blood groups and biochemical genetics**, Wageningen, v.11, n.1, p.13-20, 1980.
12. EJIMA, H.; NOMURA, K.; BULL, R.W. Breed differences in the phenotype and gene frequencies in canine D blood group system. **The Journal of veterinary medical science / the Japanese Society of Veterinary Science**, Tokyo, v. 56, n.4, p.623-626, 1994.
13. EUA (2002). Blood history timeline. **The Educational Broadcasting Corporation**. Acessado em 23 de novembro de 2011. Disponível em www.pbs.org/wnet/redgold/history/timeline1.html
14. ESTEVES, V.S. **Frequência de tipos sanguíneos em uma população de cães de raça de Porto Alegre e região metropolitana**, 2008. 48f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

15. ESTEVES, V.S.; LACERDA, L.A.; LASTA, C.S.; PEDRALLI, V.; GONZÁLEZ, F.H.D. Frequencies of DEA blood types in a purebred canine blood donor population in Porto Alegre, RS, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.31, n.2, p.178-181, 2011.
16. FOCADA, Y.; GUITIAN, J.; GIBSON, G. Frequencies of feline blood types at a referral hospital in the south east of England. **The Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.48, n.10, p.570-573, 2007.
17. GIBSON, G. Transfusion medicine. In: KING, L.G.; BOAG, A. *BSAVA manual of canine and feline emergency and critical care*. 2ed. Gloucester: British Small Animal Association, 2007. Cap 14, p. 215- 227.
18. 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**, Chicago, v.195, n.9, p.1230-1232, 1989.
19. 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**, Oxford, v.82, n.1, p.15-20, 1991.
20. GIGER, U., GELENS, C.J.; CALLAN, M.B.; OAKLEY, D.A. An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v.206, n.9, p.1358-1362, 1995.
21. GIGER, U. Current canine and feline blood typing methods and issues. In: *Proceedings of the 56th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists and the 40th Annual Meeting of the American Society for Veterinary Clinical Pathology*, 2005, Boston. Disponível em <http://www.ivis.org/proceedings/acvp/2005/Giger/chapter.asp?LA=1>

22. GIGER, U., STIEGER, K., PALOS, H. Comparison of various canine blood-typing methods. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.66, n.8, p.1386-1392, 2005.
23. GIGER, U. Peculiarities about feline transfusion medicine. **Proceeding of the International Veterinary Emergency and Critical Care Symposium**, Chicago, p.103-106, 2009.
24. GRIOT-WENK, M.E.; CALLAN, M.B.; CASAL, M.L.; CHISHOLM-CHAIT, A.; SPITALNIK, S.L.; PATTERSON, D.F.; GIGER, U. Blood type AB in the feline AB blood group system. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.57, n.10, p.1438-1442, 1996.
25. GURKAN, M.; ARIKAN, S.; OZAYTEKIN, E.; DODURKA, T. Titres of alloantibodies against A and B blood types in non-pedigree domestic cats in Turkey: assessing the transfusion reaction risk. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Londres, v.7, n.5, p.301-305, 2005.
26. HALE, A.S. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practive**, Filadélfia, v.25, n.6, p.1323-1332, 1995.
27. HARA, Y.; EJIMA, H.; TAGAWA, M.; MOTOYOSHI, S.; IKEMOTO, S. Preparation of monoclonal antibodies against dog erythrocyte antigen D1 (DEA-3). **The Journal of veterinary medical science / The Japanese Society of Veterinary Science**, Tokyo, v.53, n.6, p.1105-1107, 1991.
28. HOHENHAUS, A.E. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. **Transfusion Medicine Reviews**, Orlando, v.18, n.2, p.117-126, 2004.
29. HOSGOOD, G. Blood transfusion: a historical review. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 197, n.8, p.998-1000, 1990.

30. IAZBIK, M.C.; O'DONNELL, M.; MARIN, L.; ZA IDIVAR, S.; HUDSON, D.; COUTO, C.G. Prevalence of dog erythrocyte antigens in retired racing greyhounds. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v.39, n.4, p.433-435, 2010.
31. KNOTTENBEL, C.M.; ADDIE, D.D.; DAY, M.J.; MACKIN, A.J. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.40, n. 3, p. 115-118, 1999.
32. KNOTTENBELT, C.M.; DAY, M.J.; CRIPPS, P.J.; MACKIN, A.J. Measurement of titres of naturally occurring alloantibodies against feline blood group antigens in the UK. **Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v.40, n. 8, p. 365-370, 1999 (b).
33. KESSLER, R.J.; REESE, J.; CHANG, D.; SETH, M.; HALE, A.S.; GIGER, U. Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and *Dal* blood typing and cross-matching by gel column technique. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v.39, n.3, p.306-316, 2010.
34. LACERDA, L.A.; OLIVEIRA, S.T.; GUERRA, T.A.; STEIN, G.G.; GONZÁLES, F.H.D. 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, s., p.46-53, 2008.
35. LACERDA, L.A.; OLIVEIRA, S.T.; STEIN, G.G.; GUERRA, T.A.; GONZÁLES, F. Titulação de aloanticorpos anti-a e anti-b em gatos domésticos sem raça definida em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Ceres**, Viçosa, v.58, n.1, p.51-55, 2011.
36. LANEVSKI, A.; WARDROP, J. Principles of transfusion medicine in small animals. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.42, n.6, p.447-454, 2001.

37. LIPINSKI, M.J.; FROENICKO, L.; BAYSAC, K.C.; NICHOLAS, C.B.; LEUTENEGGER, C.M.; LEVY, A.M.; LONGERI, M.; NIINI, T.; HAYDAR, O.; SLATER, M.R.; PEDERSEN, N.C.; LYONS, L.A. The ascent of cat breeds: Genetic evaluation of breeds and worldwide random-bred populations. **Genomics**, San Diego, v.91, n.1, p.12-21, 2008.
38. LUCIDI, C.A. Pesquisa do antígeno eritrocitário canino 1.1 em plaquetas de cão, 2007. 91f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.
39. MALIK, R.; GRIFFIN, D.L.; WHITE, J.D.; ROZMANEC, M.; TISDALL, P.L.C.; FOSTER, S.F.; BELL, K.; NICHOLAS, F.W. The prevalence of feline A/B blood types in the Sydney region. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, v.83, n.1-2, p.38-44, 2005.
40. MARQUES, C.F.S. **Frequência do antígeno eritrocitário DEA 1.1 em canídeos e dos antígenos eritrocitários A, B e AB em felídeos de Lisboa, Portugal**, 2010. 98f. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.
41. MEDEIROS, M.A.S.; SOARES, A.M.; ALVIANO, D.S.; EJZEMBERG, R.; DA SILVA, M.H.; ALMOSNY, N.R. Frequencies of feline blood types in the Rio de Janeiro area of Brazil. **Veterinary Clinical Pathology**, v.37, n.3, p.272-276, 2008.
42. MELZER, K.J.; WARDROP, K.J.; HALE, A.S.; WONG, V.M. A Hemolytic Transfusion Reaction due to DEA 4 Alloantibodies in a Dog, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Filadelfia, v.17, n.6, p.931-933, 2003.
43. NOVAIS, A.A.; FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E.. DEA (Dog Erythrocyte Antigen) Prevalence in Dogs from Brazil. In: Proceedings of the 27^o Congress of the World Small Animal Veterinary Association, 2002, Granada.

Disponível em
www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2002&PID=2839

44. NOVAIS, A.A.; FAGLIARI, J.J.; SANTANA, A.E. Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos (*DEA – dog erythrocyte antigen*) em cães domésticos (*Canis familiaris*) criados no Brasil. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v.20, n.2, p.212-218, 2004.
45. OGNEAN, L.; WASHIO, M.; GROZA, I.; CERNEA, C. The integrating and typifying the blood groups, constituent of a new antigenic system at dog. **Clujul Medical Veterinar**, Cluj-Napoca, n.9, 2006.
46. OGNEAN, L. Shigueta method application of blood typing in a canine population from Transylvania and extrapolate of these data in the DEA System. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**, Cluj-Napoca, v. 64, n.1-2, p.216-220, 2007.
47. OGNEAN, L.; MIRCEAN, M.; CERNEA, C.; MURESAN, C.; TRINCA, S. Testing compatibility and evaluating the risk of blood transfusions in a sample of dogs that underwent intensive therapy. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine**, Cluj-Napoca, v.65, n.1, p.133-138, 2008.
48. OGNEAN, L.; CERNEA, C.; MICLAUS, V.; JOANTA, A.; MOLDOVAN, M. Investigation of erythrocyte antigenic profile and blood compatibility by blood typing in dogs. **Studia Universitatis Vasile Goldis – Seria Stiintele Vietti**, Arad, v.19, n.1, p.63-68, 2009.
49. PRITTIE, J.E. Controversies related to red blood cell transfusion in critically ill patients. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v.20, n.2, p.167-176, 2010.

50. PROVERBIO, D.; SPADA, E.; BAGGIANI, L.; PEREGO, R.; MILICI, A.; FERRO, E. Comparison of gel column agglutination with monoclonal antibodies and card agglutination methods for assessing the feline AB group system and a frequency study of feline blood types in northern Italy. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v.40, n.1, p.32-34, 2011.
51. REID, M.E. & WESTHOFF, C.M. Membrane blood group antigens and antibodies. In: HILLYER C.D., SILBERSTEIN L.E., NESS P.M. & ANDERSON K.C. Blood Banking and Transfusion Medicine: Basic principles and practice. 2ed. Filadélfia: Churchill Livingstone, 2007. seq 2, cap.5, p.53-68.
52. RIOND, B.; SCHULER, E.; ROGG, E.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LUTZ, H. Prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in dogs in Switzerland evaluated with the gel column technique. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, Zurich, v.153, n.8, p.369-374, 2011.
53. SAXENA, R.; BROWN, L.G.; HAWKINS, T.; ALAGAPPAN, R.K.; SKALETSKY, H.; REEVE, M.P.; REIJO, R.; ROZEN, S.; BETHDINULOS, M.; DISTECHE, C.M.; PAGE, D.C. The DAZ gene cluster on the human Y chromosome arose from an autosomal gene that was transposed, repeatedly amplified and pruned. **Nature genetics**, New York, v.14, n.3, p.292-299, 1996.
54. SILVA, T.D.P. **Tipagem e teste de compatibilidade sanguínea, caracterização hematológica e bioquímica em felinos selvagens e domésticos**. 2011. 97p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
55. SILVESTRE-FERREIRA, A.C.; PASTOR, J. Feline neonatal isoerythrolysis and the importance of feline blood types. **Veterinary Medicine International**, Cidade Nasr, v.2010, 8p., 2010.

56. SOUZA, S.L. **Estudo da frequência dos grupos sanguíneos DEA 1 e DEA 7 em cães de diferentes raças como subsídio à implantação de banco de sangue canino na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.** 2005. 56p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
57. SUZUKI, Y.; STORMONT, C.; MORRIS, B.G.; SHIFRINE, M.; DOBRUCKI, R. New antibodies in dog blood groups. **Transplantation Proceedings**, New York, v.7, n.3, p.365-367, 1975.
58. SWARUP, C.D.; DHOT, B.P.S; KOTWAL, L.C.J; VERMA, L.C.A.K. Comparative study of blood cross matching using conventional tube and gel method. **Medical Journal Armed Forces India**, New Delhi, v.64, n.2, p.129-130, 2008.
59. SYMONS, M.; BELL, K. Expansion of the canine A blood group system. **Animal Genetics**, Oxford, v.22, n.3, p.227-235, 1991.
60. TOCCI, L.J.; EWING, P.J. Increasing patient safety in veterinary transfusion medicine: an overview of pretransfusion testing. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, San Antonio, v.19, n.1, p.66-73, 2009.
61. TOCCI, L.J. Transfusion medicine in small animal practice. **The Veterinary clinics of North America: Small animal practice**, Filadelfia, v.40, n.3, p.485-494, 2010.
62. VAN DER MERWE, L.L.; JACOBSON, L.S.; PRETORIUS, G.J. The breed prevalence of dog erythrocyte antigen 1.1 in the Onderstepoort area of South Africa and its significance in selection of canine blood donors. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v.73, n.2, p.53-56, 2002.

63. WARDROP, K.J. The Coombs' test in veterinary medicine: past, present, future. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, v.34, n.4, p.325-334, 2005.
64. WARDROP, K.J.; REINE, N.; BIRKENHEUER, A.; HALE, A.; HOHENHAUS, A.; CRAWFORD, C.; LAPPIN, M. Canine and feline blood donor screening for infectious disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v.19, n.1, p. 135-142, 2005.
65. WEINGART, C.; GIGER, U.; KOHN, B. Whole blood transfusions in 91 cats: a clinical evaluation. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, Londres, v.6, n.3, p. 139-148, 2004.
66. WEINSTEIN, N.M.; BLAIS, M.; HARRIS, K.; OAKLEY, D.A.; ARONSON, L.R.; GIGER, U. A newly recognized blood group in domestic shorthair cats: The Mik red cell antigen. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Lawrence, v.21, n.2, p.287-292, 2007.
67. ZUBCIC, D.; BEDRICA, L.J.; GRACNER, D.; HARAPIN, I.; FURY, M.; JRTRMIC, J. Blood groups, haematology and clinicochemical indicators in indigenous breeds of dogs. I. Croatian sheepdog. **Veterinarski Arhiv**, Zagreb, v.78, n.2, p.141-147, 2008.
68. ZHENG, L. ZHONG, Y.; SHI, Z. GIGER, U. Frequencies of blood types A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Benjin. **Veterinary Clinical Pathology**, Santa Bárbara, In press.