

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ



JAMILLE BISPO DE CARVALHO

FENOTIPATIGEM ERITROCITÁRIA PARA O SISTEMA AB FELINO EM
GATOS DOMÉSTICOS DA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-
BRASIL

ILHÉUS - BAHIA

2019

JAMILLE BISPO DE CARVALHO

FENOTIPATIGEM ERITROCITÁRIA PARA O SISTEMA AB FELINO EM
GATOS DOMÉSTICOS DA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-
BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de concentração: Clínica e Sanidade Animal Orientadora: Prof. DSc. Renata Santiago Alberto Carlos.

ILHÉUS-BAHIA

2019

C331 Carvalho, Jamille Bispo de.
Fenotipagem eritrocitária para o sistema AB felino em gatos domésticos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia-Brasil / Jamille Bispo de Carvalho. – Ilhéus, BA: UESC, 2019.
vii, 34 f. ; anexos.

Orientadora: Renata Santiago Alberto Carlos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

Referências bibliográficas: f. 14-17.

1. Gatos – Doenças. 2. Sangue – Transfusão. 3. Hemácias. 4. Eritrócitos. 5. Antígenos. I. Título.

CDD 636.8089

JAMILLE BISPO DE CARVALHO
FENOTIPATIGEM ERITROCITÁRIA PARA O SISTEMA AB FELINO EM
GATOS DOMÉSTICOS DA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-
BRASIL

Ilhéus – Bahia, 21/02/2019

Renata Santiago Alberto Carlos - DSc
UESC/PPGCA
(Orientadora)

Alexandre Dias Munhoz - DSc
UESC

Luciana de Almeida Lacerda - DSc
UFRGS

Ilhéus-Bahia
2019

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado força, paciência e determinação para cumprir os deveres a mim designados;

Agradeço a professora e orientadora Renata Santiago Alberto Carlos pelo incentivo e dedicação durante os anos que passei no mestrado;

Agradeço a minha família, principalmente ao meu esposo Leonardo Teixeira e a minha filha canina Lara, que sempre estiveram ao meu lado, nos momentos mais difíceis me confortando e animando;

Agradeço a minha amiga e fiel escudeira na pós-graduação Camilla Freitas Oliveira e as demais colegas de orientação Katharine Costa, Jéssica Veloso, Joana Oliveira, Rebeca Costa, Nina Gualberto e Paula Guedes pelos ensinamentos e todo o apoio. Sem vocês, a caminhada seria muito mais árdua;

Agradeço ao professor Alexandre Dias Munhoz e a todas as meninas do laboratório de Análises Clínicas Gabriela Mota, Lília Fernandes e Ingrid Alcântara pela paciência e boa vontade em ajudar em meu projeto;

Agradeço a professora Luciana Lacerda pela ajuda na disponibilização de reagentes que foram fundamentais para a realização do trabalho;

Agradeço a CAPES pelo financiamento do meu mestrado;

Agradeço a todos os professores da pós-graduação, e funcionários que direta e indiretamente contribuíram para o meu crescimento acadêmico;

Agradeço a todos os tutores e animais que passaram por mim nas coletas e atendimentos, sem eles a conclusão desse mestrado seria impossível.

Muito obrigada a todos!

FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA PARA O SISTEMA AB FELINO EM GATOS DOMÉSTICOS DA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL

RESUMO

O trabalho teve como objetivo determinar a frequência dos fenótipos eritrocitários do sistema AB felino em gatos domésticos das cidades de Ilhéus e Itabuna, Bahia- Brasil. Amostras sanguíneas de 236 felinos foram coletadas no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC e em visitas domiciliares para a realização de tipagem sanguínea através do método em tubo de ensaio. Foi realizada tipagem reversa nos animais B com animais do fenótipo A para confirmação do tipo sanguíneo. O teste cruzado foi realizado entre animais tipo A em busca de antígenos diferentes do sistema AB felino. Os resultados foram analisados macro e microscopicamente. Dos 236 animais testados, 233 (98.72%) apresentaram sangue tipo A, três (1.28%) apresentaram sangue tipo B e nenhum animal (0%) possuiu tipo sanguíneo AB, que corroboram com diversos estudos pelo mundo indicando a predominância de fenótipo eritrocitário A em gatos sem raça definida. Todos os animais de tipo B reagiram à tipagem reversa com sorotipo A confirmando seu tipo sanguíneo. Todos os animais A foram compatíveis entre si, não sendo detectado nenhum outro antígeno eritrocitário através do método utilizado. Diante desses dados, conclui-se, portanto, que diferentes fenótipos eritrocitários estão presentes na população estudada, e que é importante a realização da fenotipagem nesses animais antes de procedimentos transfusionais, a fim de evitar complicações hemolíticas graves entre animais incompatíveis.

Palavras chave: Alo anticorpos. Hemácias. Tipo sanguíneo. Transfusão sanguínea.

ERYTHROCITARY PHENOTYPE FOR THE AB FELINE SYSTEM IN DOMESTIC CATS OF ILHÉUS-ITABUNA MICROREGION, BAHIA-BRAZIL

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the frequency of the erythrocyte phenotypes of the feline AB system in domestic cats from the cities of Ilhéus and Itabuna, Bahia, Brazil. Blood samples from 236 felines were collected at the Veterinary Hospital of the State University of Santa Cruz (UESC) and home visits to perform blood typing using the test tube method. Reverse typing was performed on animals B with animals of phenotype A for confirmation of blood type. Cross-testing was performed among type A animals in search of different antigens of the feline AB system. The results were analyzed macro and microscopically. Of the 236 animals tested, 233 (98.72%) presented type A blood, three (1.28%) presented type B blood and no animal (0%) had an AB blood type, which corroborate with several studies around the world indicating the predominance of erythrocyte A in undefined cats. All type B animals reacted with reverse typing with serotype A confirming their blood type. All A animals were compatible with each other and no other erythrocyte antigen was detected by the method used. [] Given these data, it is concluded that different erythrocyte phenotypes are present in the population studied, and that it is important to perform phenotyping in these animals before transfusion procedures, in order to avoid serious hemolytic complications between incompatible animals.

Key words: Allo antibodies. Blood cells. Blood type. Blood transfusion

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO.....	8
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1 HISTÓRICO E IMUNOLOGIA DA FENOTIPAGEM FELINA.....	9
2.2 TÉCNICAS DE FENOTIPAGEM SANGUÍNEA EM GATOS.....	11
2.3 FENOTIPAGEM SANGUÍNEA FELINA PELO MUNDO.....	12
2.4 FENOTIPAGEM ERITROCITÁRIA DO SISTEMA AB FELINO NO BRASIL.....	13
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
ARTIGO CIENTÍFICO.....	19

1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos, os felinos ganharam espaço no convívio com os seres humanos, e tornaram-se um dos principais animais de companhia que conhecemos hoje (KURUSHIMA et al.,2012). A medicina veterinária moderna, portanto, avançou suas tecnologias para aperfeiçoar seus conhecimentos com intenção de melhor atender seus pacientes felinos. Em meio a esse processo, os procedimentos transfusionais em gatos passaram a ser aperfeiçoados para atender aos animais que necessitavam de suporte hematológico em suas enfermidades (LANEVSKI; WARDROP, 2001; HOHENHAUS, 2004; BARFIELD; ADAMANTOS, 2015).

O sistema AB é o principal sistema sanguíneo de felinos e possui particularidades que envolvem antígenos eritrocitários e anticorpos que, a depender de qual tipo sanguíneo o animal possua, há um enorme risco de ocorrência de reações hemolíticas moderadas e graves decorrente de transfusões, podendo levar o animal a óbito em poucos dias ou semanas (BUCHELER, 1999; JAGODICH; HOLOWAYCHUK, 2016). Embora o sistema AB seja o principal, em Weinstein et al. (2007) encontraram um antígeno não pertencente a este denominado “Mik”, abrindo possibilidades de buscas por outros fatores eritrocitários que causem transtornos hemolíticos em gatos. Além dos riscos em transfusões, a incompatibilidade sanguínea entre mãe e filhotes de gatos podem levar a enfermidades letais como a isoeritrolise neonatal, que é um fator importante para criadores de animais de raças específicas (ZHENG et al. 2011).

As técnicas de fenotipagem sanguínea em felinos atualmente são consolidadas, permitindo transfusões de forma segura (KOHN, 2006). Há no mercado diversos métodos para realização desses testes. Um dos mais conhecidos e utilizados é o método de tubo, onde a leitura e visualização de aglutinação é realizada em tubos de ensaio (MOLDOVAN et al. 2012). O método comercial de cartão também é amplamente utilizado por ser rápido e igualmente eficaz, com resultado em poucos minutos (STIEGER et al. 2005; SETH et al. 2011; RUDD, 2013).

Independentemente de qual técnica será escolhida, a realização da tipagem sanguínea nos gatos antes de transfusões é extremamente importante, pois em diversos locais do mundo, o risco de incompatibilidade é considerável, pois os sorotipos sanguíneos podem variar de região e entre as raças, elevando o número de animais com sorotipos B e AB (PROVERBIO, 2013), maiores responsáveis por reações adversas pelo fato de possuírem aglutininas de ligações fortes, comparado ao sorotipo A (KNOTTENBELT, 2002; ARIKAN et al. 2006; LACERDA et al. 2008).

Devido à escassez desse tipo de estudo na região Nordeste, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência do tipo sanguíneo de felinos e buscar antígenos não pertencentes ao grupo AB dos felinos na microrregião de Itabuna e Ilhéus, Bahia.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico e Imunologia da fenotipagem felina

Os felinos possuem o principal sistema sanguíneo denominado sistema AB, Dentro desse conjunto, existem animais com os fenótipos eritrocitários A, B e AB, sendo o tipo A o mais predominante, o tipo B mais raro e o tipo AB considerado extremamente raro (GRIOT- WENK et al. 1996; GUERRA, 2007; SETH, 2011). O complexo de antígenos sanguíneos dos felinos é constituído basicamente por enzimas eritrocitárias denominados ácido N-acetilneuramínico (NeuAc, ou antígeno tipo B) e ácido N-glicolilneuramínico (NeuGc ou antígeno tipo A). Animais que são do tipo AB expressam NeuAc e NeuGc em quantidades variadas (GANDOLFI et al. 2016; KEHL et al. 2018).

Os sorotipos sanguíneos A e B foram inicialmente descobertos por Holmes (1950) e posteriormente nomeados (como A e B) por Eyquem em 1962 (Andrew, 2002). A descoberta do tipo AB é datada por volta dos anos 80, por Auer e Bell (1981). O tipo sanguíneo dos felinos é determinado por antígenos presentes na membrana celular dos eritrócitos (EJIMA et al. 1986), e cada animal possui anticorpos pré-formados contra o tipo sanguíneo diferente do seu, com exceção aos animais AB.

Esses sorotipos são determinados por pelo menos dois alelos (a ou b) no mesmo locus gene. O tipo de alelo “a” possui dominância sobre o alelo tipo “b”. Sendo assim, gatos com fenótipo A podem ter o genótipo A/a, A/b ou A/a; enquanto apenas gatos homocigóticos para o “B” expressam quantidades significativas do antígeno eritrocitário do tipo B (ZHENG et al., 2011). O sangue tipo “AB” cujo alelo é a^x possui codominância para o b e recessivo para o alelo A, seu genótipo pode ser expresso como a^x/a^x ou a^x/b (KEHL et al., 2018).

Todos os gatos apresentam alo anticorpos pré-formados que ocorrem de forma natural contra os outros tipos, exceto em gatos do tipo AB, que apesar de não possuírem anticorpos, seu sangue aglutina em contato com anticorpos anti-A e Anti-B (KEHL et al., 2018). Os gatos portadores do sangue tipo B possuem fortes hemolisinas e hemaglutininas anti-A, que são principalmente as Imunoglobulinas M. Felinos do tipo sanguíneo A possuem hemaglutininas imunoglobulinas mais fracas com proporções semelhantes de IgM e IgG. Por causa desses aloanticorpos, a combinação de sangues entre um doador A e um receptor do tipo B pode causar uma severa reação hemolítica (AUER; BELL, 1983; KNOTTENBELT, 2002; GURKAN, et al. 2005).

A isoeritrolise neonatal está relacionada à presença de alo anticorpos contra diferentes tipos de sangue. Quando uma felina do tipo B dá a luz a filhotes de tipo A ou AB, o anti-A (ou vice-versa) da mãe é transferido aos recém-nascidos (BUCHELER, 1999; FERREIRA e PASTOR, 2010). Estes aloanticorpos são transferidos através do colostro durante o primeiro dia de vida causando destruição das hemácias do animal neonato. Sinais clínicos em neonatos afetados podem variar de uma oculta à uma severa hemoglobinúria e morte nos primeiros dias de vida (CASAL et. al. 1996; KARADJOLE et al. 2016). Por essa razão, recomenda-se também a fenotipagem e a genotipagem sanguínea dos pais antes de acasalamentos planejados para identificar homocigose ou heterocigose e evitar o nascimento de filhotes que podem ter complicações hemolíticas pós nascimento, informação de extrema importância para os criadores de animais de raça. (ZHENG et al. 2011; TASKER, 2014).

Além dos tipos sanguíneos mais conhecidos atualmente, um tipo diferente de antígeno nos eritrócitos de felinos foi descoberto em um estudo feito por Weinstein et. al. (2007) e denominado “Mik”, onde os autores

concluíram haver um novo antígeno sanguíneo de ocorrência natural distinto do sistema AB dos gatos.

2.2 Técnicas de fenotipagem sanguínea em gatos.

Várias técnicas são utilizadas para realizar a fenotipagem sanguínea em felinos. Com o avanço da medicina veterinária através das décadas, a emergência e urgência ganharam cuidados especiais. A disponibilidade de componentes sanguíneos aumentou o número de indicações para transfusão em cães e gatos, mesmo que o benefício baseado em evidências ainda seja escasso. Graças à disponibilidade comercial de kits de fenotipagem sanguínea e testes de compatibilidade em gatos, a transfusão sanguínea tornou-se mais segura e acessível (RUDD, 2013).

Stieger et al., (2005) e Seth et al., (2011) descrevem alguns métodos de tipagem sanguínea, dentre eles: O método de cartão, que utiliza anticorpos monoclonais liofilizados Anti A e anti B, que são ressuspensos em solução tampão para posterior leitura de aglutinação; O método de ensaio imunocromatográfico que também utiliza tiras de anticorpos monoclonais por onde passam as hemácias através de difusão e a leitura é realizada através da observação das bandas de eritrócitos através das tiras e o ensaio em colunas de gel, que é amplamente utilizado em laboratórios humanos e sendo consolidado também na medicina veterinária sendo uma excelente escolha para realização de fenotipagem sanguínea em gatos. Esse método consiste em adicionar a solução de hemácias em uma coluna de gel contendo os reagentes anti-A e anti-B. Após a centrifugação dessa solução realiza-se a leitura de baseada na retenção de hemácias ao decorrer da coluna.

O método de tubo de ensaio, que é considerado historicamente o padrão ouro para a realização de fenotipagem, prepara-se uma suspensão de eritrócitos em um tubo de ensaio que é levado à centrífuga. Após esse procedimento, o plasma é separado e as hemácias são ressuspensas em solução PBS ou solução fisiológica a 0,9%. Este procedimento se repete por três vezes e depois é reconstituído e misturado ao reagente a ser testado e lectina de *Triticum vulgare*. Os tubos são incubados à temperatura ambiente

por quinze minutos e após esse tempo são agitados para leitura de aglutinação. (STIEGER et al. 2005; SETH et al. 2011). Por possuir custo acessível e um bom grau de especificidade e sensibilidade, este foi o padrão utilizado para a fenotipagem sanguínea no presente estudo.

2.3 Fenotipagem sanguínea felina pelo mundo

Estudos em diversas partes do mundo demonstraram que pode haver variações geográficas no tipo sanguíneo em felinos, além das variações interraciais (KNOTTENBELT, 2002), como demonstrado por Arikan et al. (2003). Seus estudos evidenciam maior quantidade de animais de raça pura (Angorá) do tipo B (60%) sobre o tipo A (40%) em determinada região da Turquia. Em outro estudo, também na Turquia, desenvolvido pelo mesmo autor e seus colaboradores (ARIKAN et al. 2006), com animais sem raça definida, foi evidenciada uma maior quantidade de animais tipo A (73.1%) sobre B (2.3%), sugerindo a correlação entre o local de origem, as raças estudadas e seus tipos sanguíneos.

É importante o conhecimento da predominância do tipo sanguíneo da população felina em uma determinada região, pois pode auxiliar na prevenção de reações hemolíticas e de ocorrência de isoeritrólise neonatal (LACERDA et al. 2008). Um estudo da distribuição do tipo sanguíneo em 245 gatos mestiços na Nova Zelândia realizado por Cattin (2015) demonstrou que 79 a 89% dos animais possuíam o sangue tipo A, 16 a 20% o sangue tipo B e 0,6 a 1% o tipo AB, o que sugerem alto risco de complicações por transfusão sanguínea em gatos sem raça definida nessa região. Um trabalho semelhante foi realizado por Zhenget et al. (2011), com 262 animais em Pequim, com predominância dos sangues tipo A (88%), seguido pelo tipo B (11,5%) e apenas um animal com sangue tipo AB (0,5%). O quadro 1 mostra a frequência dos fenótipos eritrocitários do sistema AB de gatos em alguns locais do mundo.

Quadro 1: Distribuição do tipo sanguíneos de gatos em outros países

Local/ autor(es)	N	A (%)	B(%)	AB(%)
Estados Unidos (Giger et al., 1989)	485	99,6	0.4	-
Turquia (Arikan et al., 2003)	85	40	60	-

Sidney, Austrália (Malik et al., 2005)	186	62	36	1,6
Sudoeste da Inglaterra (Forcada et al., 2007)	105	67,6	30,5	1,9
Dublin, Irlanda (Juvet, 2011)	207	95,2	4,3	0,5
Pequim, China (Zheng et al., 2011)	262	88	11,5	0,5
Quebec, Canadá (Fosset, 2014)	178	94,4	5	0,6
Nova Zelândia (Cattin, 2015)	245	79-89	16-20	0,6-1
Zagreb, Croácia (Karadjole et al., 2016)	30	96,66	-	3,33
França (Barrot et al., 2017)	231	89,6	10	0,4
Península Ibérica (Vieira et al., 2017)	1070	96,5	3,5	-

2.4 Fenotipagem eritrocitária do sistema AB felino no Brasil

No Brasil, Lacerda et. al. (2008) estudaram a prevalência dos tipos sanguíneos em 100 felinos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, através de teste de hemagutinação em tubo de ensaio e de testes de tipagem reversa. Na pesquisa, o tipo sanguíneo “A” foi predominante com 97% dos animais; 3% dos gatos possuíam tipo B e nenhum animal foi encontrado com o tipo AB.

Também no Brasil, Medeiros et al. (2008) pesquisaram a frequência do tipo sanguíneo em 172 gatos sem raça definida da cidade do Rio de Janeiro (RJ). Para a realização do trabalho foi utilizado teste de tipagem sanguínea por aglutinação usando lectina de *Triticum vulgare* e soro felino anti-A. O estudo mostrou que 94,8% dos animais apresentavam tipo sanguíneo A; 2,9% eram do tipo B e 2,3% do tipo sanguíneo AB. Assim como todos os estudos, este também demonstrou a prevalência do tipo sanguíneo A dos animais testados. O quadro 2 a seguir demonstra a distribuição dos sorotipos sanguíneos de felinos no Brasil.

Quadro 2: Distribuição dos tipos sanguíneos de gatos no Brasil

Local/ autor(es)	N	A (%)	B(%)	AB(%)
Rio Grande do Sul (Lacerda et al. 2008)	100	97	3	-
Rio de Janeiro (Medeiros et al. 2008)	172	94,8	2,9	2,3
Paraíba (Mendes et al. 2013)	178	98,1	1,21	0,69
Rio de Janeiro (Teixeira-Pinto et al. 2016)	100	96	4	-
Pará (Silva et al. 2016)	235	98,3	0,42	1,28
Mato Grosso do Sul (Sorgatto et al. 2017)	202	98,5	-	1,5

A realização de tipagem sanguínea em felinos é de grande importância na clínica veterinária, uma vez que não há doador universal. Os animais que necessitam de transfusão sanguínea devem receber o mesmo tipo de sangue a fim de evitar reações de transfusão, incluindo reações graves em animais que são do tipo B e recebem sangue do tipo AB (FORCADA et al. 2007; FOSSET e BLAIS, 2014; SPADA et al. 2014). A severidade dessas reações pode variar de febre, choque anafilático ou até mesmo crise hemolítica (PENNISI, 2015). A duração dos eritrócitos de um animal que recebeu transfusão sanguínea que possuem compatibilidade completa é de cinco semanas, sem compatibilidade essas células duram alguns dias ou horas (LACERDA et. al. 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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**, v. 50, p. 303-306, 2003.
- 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**, v. 47, p. 10-13, 2006.
- BARFIELD, D.; ADAMANTOS, S. Feline blood transfusions. **Journal of feline medicine and surgery**, v. 13, p. 11-23, 2011.
- BARROT, A.C.; BUTTIN, R.; LINSART, A.; BACHY, V.; GUIDETTI, M.; BLAIS, M.C. Frequency of feline blood types in non pedigree cats in France. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 168, n. 10-12, p. 235-240, 2017.
- CATTIN, R.P. Distribution of blood types in a sample of 245 New Zealand non-purebred cats. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 21, p. 12-22, 2015.
- EJIMA, H.; KUROKAWA, K.; IKEMOTO, S. Feline red blood cell groups detected by naturally occurring isoantibody. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 48, n. 5, p. 971- 976, 1986.
- FERREIRA, A.C.S.; PASTOR, J. Feline neonatal isoerythrolysis and the importance of feline blood types. **Veterinary Medicine International**, v. 2010, 2010.
- FORCADA, Y.; GUITIAN, J.; GIBSON, G. Frequencies of feline blood types at referral hospital in the South East of England. **Journal of Small Animal Practice**, v. 48, p. 570-573, 2007.
- FOSSET, F.T.J.; BLAIS, M.C. Prevalence of feline blood groups in the Montreal area of Quebec, Canada. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 55, p. 7225-1228, 2014.

GANDOLFI, B.; GRAHN, R.A.; GUSTAFSON, N.A.; PROVERBIO, D.; SPADA, E.; ADHIKARI, B.; JANLING, C.; ANDREWS, G.; LYONS, L.A. HELPS, C.R. A novel variant CMAH is associated with blood type AB in ragdoll cats. **Plos One**, v. 11, n. 5, p. 1-15, 2016.

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, 1989.

GRIOT-WENK, M.E.; GIGER, U.; Feline transfusion medicine: Blood types and their clinical importance. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 25, n. 6, 1995.

GUERRA, T. A.; LACERDA, L.A.; OLIVEIRA, S.T. Tipagem sanguínea em felinos: 148 gatos domésticos na rotina laboratorial do LACVET-UFRGS. **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 of Feline Medicine and Surgery**, v.7, p. 301-305, 2005.

HOLMES, R. Blood groups in cats. **The Journal of Physiology**, v. 111, n. 3-4, p. 61, 1950.

HOHENHAUS, A.E. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. **Transfusion Medicine Reviews**, v. 18, n. 2, p. 117-126, 2004.

JAGODICH, T.A.; HOLOWAYCHUK, M.K. Transfusion practice in dogs and cats in internet-based survey. **Journal of Veterinary Emergency and critical care**, v, 26, n. 3, p. 360-372, 2016.

JUVET, F.; BRENNAN, S.; MOONEY, C.T. Assessment of feline blood for transfusion purposes in the Dublin area of Ireland. **Veterinary Record**, v.168, p. 352, 2011.

KARADJOLE, T.; KOVAČEVIĆ, I.; SAMARDŽIJA, M.; BABIĆ, T.; KRESZINGER, M.; RADIŠIĆ, B.; ARAPIN, I.; BEDRICA, L. Blood groups in cats in the city of Zagreb. **Veterinarski Arhiv**, v. 86, n. 2, p. 209-216, 2016.

KEHL, A.; HEIMBERGER, K.; LANGBEIN-DETSCH, I.; BOEHMER, S.; RAJ, K.; MUELLER, E.; GIGER, U. Molecular characterization of blood type A, B and C (AB) in domestic cats and a CMAH genotyping scheme. **Plos One**, v. 13, n. 9, p. 1-13, 2018.

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.

KOHN, B.; WEINGART, C. Feline blood typing and transfusion - A practical approach. **World Congress World Small Animal Veterinary Association - WSAVA/FSAVA/CSAVA**, p. 368-370, 2006,

KURUSHIMA, J.D.; IKRAM, S.; KNUDSEN, J.; BLEIBERG, E.; GRAHM, R.A.; LYONS, L.A. Cats of the pharaohs: genetic comparison of Egyptian cat mummies to their feline contemporaries. **Journal of Archaeological Science**, v. 39, p. 3217-3223, 2012.

LACERDA, L.A.; OLIVEIRA, S.T.; GUERRA, T.A.; STEIN, G.G.; GONZÁLEZ, 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**, v. 45, p.46-53, 2008.

LANEVSKI A.; WARDROP K.J. Principles of transfusion medicine in small animals. **The Canadian Veterinary Journal** v.42, n.6, p. 447-454, 2001.

MALIK, R.; GRIFFIN, D.R.; WHITE, J.D., ROSMANEC, M.; TISDALL, P.L.C.; FOSTER, S.F.; BELL, K.; NICHOLAS, F.W. The prevalence of feline A/B blood types in the Sidney Region. **Australian Veterinary Journal**, v. 83, n. 1-2, p. 38-44, 2005.

MEDEIROS, A. S.; SOARES, A. M.; ALVIANO, D.S.; EJZEMBERG, R.; SILVA, M. H.; ALMOSNY, N. G. Frequencies of feline blood types in the Rio de Janeiro area of Brasil. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 37, n. 3, p. 272-276, 2008.

MENDES, R.S.; GURJÃO, T.A.; SOUZA, A.P.; LACERDA, L.A.; SILVA, R.M.N. Frequência dos antígenos eritrocitários do sistema AB em felinos domésticos no estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 6, p. 780-784, 2013.

MOLDOVAN, M.; OGNEAN, L.; ARION, A.; MORAR, I. Testing blood pre transfusion compatibility in a group of cats. **Journal of Romanian Society For Cell Biology**, v. 17, n. 1, 2012.

PENNISI, M. G.; HARTMANN, K.; ADDIE, D. D.; LUTZ, H.; JONES, T. G.; BARALON, C. B.; EGBERINK, T. F.; HORZINEK, M. C.; HOSIE, J. M.; LLORET, A.; MARSILIO, F.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; MÖSTL, K. Blood transfusion in cats: ABCD guidelines for minimizing risks of infectious iatrogenic complications. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 17, p. 588-593, 2015.

TASKER, S.; BARKER, E. N.; DAY, M. J.; HELPS, C. R. Feline blood genotyping and detection of non-AB blood type incompatibilities in UK cats. **Journal of Small Animal Practice**, v 55, p. 185-189, 2014.

TEIXEIRA-PINTO, A.B.T.; MEDEIROS, M.A.S.; JARDIM, M.P.B.; ALBERNAZ, A.P. Frequency of blood groups and titers of alloantibodies in domestic cats. **Ciência Animal Brasileira**, v. 17, n.2, p. 222-235, 2016.

PROVERBIO, D.; SPADA, E.; PEREGO, R.; PEPA, A.D.; DE GIORGI, G.B.; BAGGIANI, L. **Assessment of blood types of ragdoll cats for transfusion purposes**. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 42, n. 2, p. 157-162, 2013.

RICHARDS, J.R. Advances in feline medicine. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 35, p. 10-11, 2005.

SETH, M.; JACKSON, V.; GIGER, U. Comparison of five blood-typing methods for the feline AB blood group system. **Journal Veterinary Research**. v. 72, n. 2, p. 203-209, 2011.

SILVA, P.B.; MONTEIRO, M.V.B.; SILVA, R.R.; ALBUQUERQUE, M.R.; PEREIRA, A.C.A.; CARREIRA, A.S.; MONTEIRO, F.O.B. Frequência dos tipos sanguíneos de gatos domésticos oriundos do estado do Pará, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 10, n. 4, p. 378-382, 2016.

SORGATTO, S.; OLIVEIRA, B.B.; GODOY, K.C.S.; ANTUNES, T.R.; LACERDA, L.A.; SOUZA, A.I. Frequência dos tipos sanguíneos de gatos domésticos mestiços no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v.11, n. 3, p. 172-178, 2017.

SPADA, E.; MIGLIO, A.; PROVERBIO, D.; ANTONGNONI, M. T.; GIORGI, G. B. D.; FERRO, E.; MANGILI, V. Signalment and blood types in cats being evaluated as blood donors at two Italian University blood banks. **Veterinary Medicine International**. v. 2014, p.3, 2014.

STIEGER, K.; PALOS, H.; GIGER, U. Comparison of various blood-typing methods for the feline AB blood group system. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 8, p. 1393-1399, 2005.

VIEIRA, S.M.; FERREIRA, R.R.F.; MATOS, A.J.F.; CARDOSO, I.M.; GRAÇA, R.M.C.; SOARES, A.R.P.B.; BLAISI-BRUGUÉ, C.; SÁNCHEZ, I.M., GOPEGUI, R.R. Distribution of feline AB blood types: a review of frequencies and its implications in the Iberian Peninsula. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, p. 1-4, 2017.

WEINSTEIN, N. M.; BLAIS, M.C.; 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**. v. 21, n. 2, p.287-292, 2007.

ZHENG, L.; ZHONG, Y.; SHI, Z.; GIGER, U. Frequencies of blood types A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Beijing. **Veterinary Clinical Pathology**. v.40, n.4, p.513-517, 2011.

ARTIGO CIENTÍFICO

Os resultados obtidos serão apresentados em forma de artigo científico, o qual será submetido ao periódico *Pesquisa Veterinária Brasileira*. Desta forma, a formatação do manuscrito aqui apresentado seguirá as normas do periódico.

FENOTIPATIGEM ERITROCITÁRIA PARA O SISTEMA AB FELINO EM GATOS DOMÉSTICOS DA MICRORREGIÃO ILHÉUS-ITABUNA, BAHIA-BRASIL¹

Jamille B. Carvalho², Camilla F. Oliveira², Katherine C. Santos,³ Paula Elisa B. Guedes², Renata S. A. Carlos²,

ABSTRACT -Carvalho, J. B., Oliveira, C.F., Santos, K. C., Guedes, P. E. B., Carlos, R. S. A. [**Frequency of blood serotypes in domestic cats of the Ilhéus-Itabuna microregion, Bahia-Brazil**] Frequência dos sorotipos sanguíneos em gatos domésticos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia-Brasil Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGCA), Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Campus Soane Nazaré de Andrade Rodovia Jorge Amado, Km 16, Bairro Salobrinho Ilhéus, Ba. 45662-900, Brazil. E-mail: mille.carvalho@hotmail.com.br.

The objective of this study was to determine the frequency of the erythrocyte phenotypes of the feline AB system in domestic cats from the cities of Ilhéus and Itabuna, Bahia, Brazil. Blood samples from 236 felines were collected at the Veterinary Hospital of the State University of Santa Cruz (UESC) and home visits to perform blood typing using the test tube method. Reverse typing was performed on animals B with animals of phenotype A for confirmation of blood type. Cross-testing was performed among type A animals in search of different antigens of the feline AB system. The results were analyzed macro and microscopically. Of the 236 animals tested, 233 (98.72%) presented type A blood, three (1.28%) presented type B blood and no animal (0%) had an AB blood type, which corroborate with several studies around the world indicating the predominance of erythrocyte A in undefined cats. All type B animals reacted with reverse typing with serotype A confirming their blood type. All A animals were compatible with each other and no other erythrocyte antigen was detected by the method used. [] Given these data, it is concluded that different erythrocyte phenotypes are present in the population studied, and that it is important to perform phenotyping in these animals before transfusion procedures, in order to avoid serious hemolytic complications between incompatible animals.

INDEXING TERMS: allo antibodies. blood cells. blood type. blood transfusion.

RESUMO. - [Fenotipagem eritrocitária para o sistema ab felino em gatos domésticos da microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia-Brasil.] O trabalho teve como objetivo determinar a frequência dos fenótipos eritrocitários do sistema AB felino em gatos domésticos das cidades de Ilhéus e Itabuna, Bahia-Brasil. Amostras sanguíneas de 236 felinos foram coletadas no Hospital

Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC e em visitas domiciliares para a realização de fenotipagem sanguínea através do método em tubo de ensaio. Foi realizada tipagem reversa nos animais B com animais do fenótipo A para confirmação do tipo sanguíneo. O teste cruzado foi realizado entre animais tipo A em busca de antígenos diferentes do sistema AB felino. Os

²Programa de Pós Graduação em Ciência Animal – PPGCA. Campus Soane de Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, Km16, Salobrinho, Ilhéus, Bahia. 45662-900,Brasil. *Corresponding author: jbcarvalho@uesc.br

³Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais-DCAA, Curso de Medicina Veterinária. Campus Soane de Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, Km16, Salobrinho, Ilhéus, Bahia. 45662-900, Brasil.

resultados foram analisados macro e microscopicamente. Dos 236 animais testados, 233 (98.72%) apresentaram sangue tipo A, três (1.28%) apresentaram sangue tipo B e nenhum animal (0%) possuiu tipo sanguíneo AB, que corroboram com diversos estudos pelo mundo indicando a predominância de fenótipo eritrocitário A em gatos sem raça definida. Todos os animais de tipo B reagiram à tipagem reversa com sorotipo A confirmando seu tipo sanguíneo. Todos os animais A foram compatíveis entre si, não sendo detectado nenhum outro antígeno eritrocitário através do método utilizado. Diante desses dados, conclui-se, portanto, que diferentes fenótipos eritrocitários estão presentes na população estudada, e que é importante a realização da fenotipagem nesses animais antes de procedimentos transfusionais, a fim de evitar complicações hemolíticas graves entre animais incompatíveis.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Alo anticorpos. Hemácias. Tipo sanguíneo. Transfusão sanguínea.

INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a humanidade em seus avanços científicos buscava desvendar os mistérios das doenças e encontrar um meio para combatê-las. A história das transfusões sanguíneas, se inicia por volta do século XIII e a partir deste momento, os avanços na medicina humana deram espaço à busca pelo conhecimento sobre transfusões sanguíneas nos animais (Hosgood, 1990). Em relação à espécie felina, seu tipo sanguíneo foi primariamente descoberto por Holmes (1950), que pela primeira vez

descreveu dois dos três principais tipos sanguíneos conhecidos atualmente. Posteriormente, Auer & Bell (1981) relataram a presença do terceiro sorotipo denominado AB.

O tipo sanguíneo dos felinos é basicamente composto por complexos de antígenos presente na membrana eritrocitária determinados por pelo menos dois alelos no mesmo locus gene (Kehl et al. 2018). Atualmente o sistema AB felino possui os três tipos sanguíneos: A, considerado o mais comum, B mais raro e AB, extremamente raro (Griot-Wenk & Giger, 1995; Seth, 2011). Weinstein et al. (2007) encontraram em seu estudo um antígeno eritrocitário diferente do sistema AB dos gatos, que foi denominado "Mik". Os felinos, portanto, possuem anticorpos pré-formados para os diferentes antígenos eritrocitários. O animal B por exemplo, possui anticorpo anti-A, e em contato com um sangue incompatível (tipo A) sofre severas reações hemolíticas (Auer & Bell, 1983; Knottenbelt, 2002). O animal A secreta anticorpos anti-B, que em contato com seu tipo sanguíneo incompatível (tipo B) pode sofrer reações leves a moderadas. Os animais AB não secretam anticorpos, mas seu sangue sofre aglutinação em contato com antígenos A ou B. Por isso, não existe um doador universal para os tipos sanguíneos dos gatos (Zheng, 2011, Kehl et al. 2018).

A isoeritrólise neonatal é uma doença hemolítica que acomete recém-nascidos que possuem fenótipo sanguíneo diferente do materno e ingerem anticorpos contra seu próprio tipo, podendo levar o animal a óbito em poucas semanas. A fenotipagem e a genotipagem

sanguínea para determinar quais alelos os pais possuem (se são heterozigotos ou homozigotos) é fundamental para que animais submetidos à transfusão recebam sangues compatíveis e em cruzamentos planejados para anular riscos de isoeritrólise neonatal (Casal et al. 1996; Zheng et al. 2011; Tasker, 2014; Karadjole et al. 2016). Várias técnicas são utilizadas para a realização da fenotipagem sanguínea em felinos. Uma técnica amplamente utilizada é a de tubo de ensaio, onde a amostra é centrifugada, diluída e adicionada aos reagentes (anti-A, anti-B e o controle) Após 15 minutos para prossegue-se com a análise. A leitura de aglutinação é realizada macroscopicamente. O sorotipo sanguíneo é determinado pela observação da aglutinação nos tubos de ensaio (Stieger et al. 2005; Seth et al. 2011). Devido à escassez desse tipo de estudo na região Nordeste, o objetivo do presente trabalho foi determinar a prevalência do tipo sanguíneo de felinos e buscar antígenos não pertencentes ao grupo AB dos felinos na microrregião de Itabuna e Ilhéus, Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética (CEUA) da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) sob o número 017/2016. Amostras sanguíneas de 236 felinos, sendo 76 machos e 160 fêmeas, com idade variando de cinco meses a 15 anos, provenientes da microrregião Ilhéus-Itabuna, foram coletadas sob autorização de seus tutores e encaminhadas para o Hospital Veterinário da Universidade Estadual

de Santa Cruz - UESC, para a realização dos testes. Destes, 226 não possuíam raça definida e dez pertenciam às seguintes raças: cinco persas, quatro siameses e um angorá. Para obtenção do n nesse estudo, o cálculo populacional de gatos foi obtido através da estimativa do Instituto Nacional Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE 2013), que determinou a quantidade de 23,6% dos domicílios com felinos.

Ainda segundo o IBGE, há uma estimativa de três pessoas por residência. Levando em conta esses dados e a média da população dos municípios Ilhéus e Itabuna pelo Senso (2010) de 64.817 domicílios e estimativa de 15.296 gatos. Com base nesses dados, com o auxílio do programa Sample Size (disponível na plataforma <<http://sampsizemethod.sourceforge.net/iface/index.html>>), obteve-se o tamanho amostral equivalente a 263 animais com erro de 6%, prevalência de 50% e nível de confiança de 95%. Para a obtenção das amostras sanguíneas os animais foram contidos envolvidos em toalhas para impedir movimentos bruscos ou em sacos de material sintético confeccionado especialmente para imobilização de felinos, conforme a metodologia de Souza (2003). Com os animais devidamente contidos, foram coletados de 3 a 5 ml de sangue por venopunção jugular ou cefálica, e distribuídos em dois tubos com o mesmo volume sendo um tubo contendo etilenodiaminotetracético dipotássico (EDTA) e um outro sem anticoagulante. As amostras foram acondicionadas em refrigeração até o momento da realização do teste por no máximo 72 horas.

O procedimento de fenotipagem sanguínea foi realizado segundo a metodologia de Knottenbelt et al. (1999); Knottenbelt (2002); Stieger et al. (2005), com modificações. No momento da realização do teste, os tubos com EDTA retirados da refrigeração e deixados em repouso até atingir a temperatura ambiente. Após esse período, as amostras com EDTA foram submetidas à centrifugação com 1050g por cinco minutos para a separação de plasma e eritrócitos.

Com auxílio de uma pipeta de Pasteur, o plasma e a capa leucocitária de cada amostra foram removidos e acrescentou-se 4 ml de solução fisiológica a 0,9% (NaCl) com a mesma pipeta para lavagem das hemácias. O conteúdo foi cuidadosamente homogeneizado e levado à centrífuga a 2300 rpm por três minutos. Esse procedimento foi repetido mais duas vezes a fim de se obter um concentrado de eritrócitos.

Após a etapa de lavagem, preparou-se uma solução de hemácias, na qual foram colocados 50 microlitros (μ l) do concentrado de eritrócitos e 950 μ l de NaCl 0,9% em um tubo de ensaio. Para a realização do teste propriamente dito, foram identificados três tubos de ensaio para cada amostra. Cada tubo foi devidamente identificado como: Tubo controle (C), tubo anti-A (α A) e tubo anti-B (α B).

No tubo controle foi adicionado 50 μ l de NaCl 0,9%. O tubo anti-A recebeu 50 μ l de reagente anti-A (soro de um animal B já testado) e no tubo anti-B foi colocado 50 μ l de reagente anti-B (lectina de *Triticum vulgaris*). Após a adição dos reagentes, cada tubo recebeu,

respectivamente 25 μ l da solução de eritrócitos já preparada anteriormente e foram agitados gentilmente para a homogeneização. Os três tubos foram incubados por 15 minutos em temperatura ambiente, e após esse período os mesmos foram centrifugados por 20 segundos a 1050g para realizar a leitura de aglutinação. Ao final do experimento foi feito o cálculo de probabilidade de ocorrência de reações adversas secundária a transfusão de acordo com Marques (2010), multiplicando-se a porcentagem de possíveis receptores (animais B) pela porcentagem de doadores incompatíveis (animais A) achados no trabalho.

O teste cruzado maior foi realizado em todas as amostras de forma pareada, como tipagem reversa para confirmação dos animais tipo B e inclusive entre animais de tipo A, na busca de antígenos não pertencentes ao sistema AB felino. O procedimento seguiu similar ao da tipagem sanguínea tradicional, mas no lugar dos reagentes anti-A ou anti-B foi utilizado o soro dos próprios animais tipados no dia, ou seja, um conjunto de cinco a dez animais do tipo A foram submetidos a testes cruzados entre si, e uma alíquota do soro de uma das amostras foi submetida a congelamento para a realização do teste cruzado com as amostras do dia seguinte. Adicionou-se, portanto, mais 25 μ l da mesma solução de eritrócitos já anteriormente preparada ao tubo contendo 50 μ l do soro das amostras. Após esse processo, os tubos foram incubados em banho-maria a 37°C por 15 minutos, centrifugados por 20 segundos a 1000g para realização a

leitura de aglutinação. Ao término do processo de encubação, as amostras eram colocadas em lâminas e olhadas em microscopia óptica com aumento de 10x para a observação de possíveis micro aglutinações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 236 animais testados, 233 (98,72%) apresentaram tipo sanguíneo A, três (1,28%) apresentaram tipo sanguíneo B e nenhum animal tipado possuiu sangue tipo AB. Esses resultados corroboram com autores brasileiros com estudos em Porto Alegre (Lacerda et al. 2008) e Rio de Janeiro (Medeiros, 2008), que também indicaram uma alta porcentagem de animais tipo A prevalecente sobre tipos B e AB, e autores outras partes do mundo como França e Croácia (Barrot 2016; Karadjole et al. 2016), que também relatam uma maior quantidade de animais A testados. Em contrapartida, Arikan (2003) em seu trabalho relata uma maior porcentagem de animais tipo B (60%) sobre A (40%), mas as amostras sanguíneas dos animais por ele testados eram de raça pura (Angorá Turco e Turkish Van), reforçando o fato de algumas raças específicas possuírem elevados índices de indivíduos com tipo sanguíneo diferente daquele que é considerado o mais comum entre os gatos.

Ainda com relação à raça dos animais testados no presente estudo, a grande maioria era pertencente à classe sem raça definida (SRD) e os três animais do tipo B eram SRD. Uma pequena quantidade de animais de raça pura (n =10, cinco persas, quatro siameses e um angorá) foi inserida no

estudo, e todos eles mostraram-se pertencentes ao tipo sanguíneo A. Gurkan (2006) realizou um estudo similar também na Turquia, com animais SRD e observou 73.1% de gatos tipo A, 24.6% do tipo B e 7% dos animais sendo do tipo AB. É evidente que nesse estudo, a quantidade de animais tipo A é mais elevada comparando-se ao estudo feito pelo mesmo autor em 2003 com animais de raça pura, mas ainda assim, o número de animais do tipo B ainda é elevado com relação ao presente estudo, evidenciando que não só animais de raça podem ter um alto número de indivíduos tipo B ou AB, mas também as variações regionais favorecem esse achado, devido ao cruzamento indiscriminado entre os animais.

Nenhum animal deste estudo foi relatado sendo do tipo sanguíneo AB, o que acontece também em trabalhos nos Estados Unidos, Turquia e Península Ibérica (Giger, 1989; Arikan, 2003; Vieira, 2017), que pode ser explicado pelas amostras pertencentes a animais sem raça definida e pela extrema raridade desse tipo sanguíneo ser encontrado. Apesar de o estudo de Arikan (2003) ser basicamente com animais de raça pura, o mesmo também não encontrou nenhum exemplar com esse tipo sanguíneo, justamente por sua raridade e pelo sangue AB não ser apenas um resultado de cruza entre um gato A e B simplesmente, mas sim por ser feita por alelos codominantes para que expresse os dois antígenos eritrocitários (Giger et al. 1991; Arikan, 2003). Silva (2016), portanto, em seu relato constatou maior prevalência de animais AB (1,28%) sobre animais B (0,42%), fato ligado a

maior quantidade de animais com alelos heterozigotos na região em que foi realizado o trabalho.

Os testes de reação cruzada foram utilizados para duas finalidades: como tipagem reversa para confirmação dos animais encontrados que eram do tipo B e para testar os animais A em busca de algum antígeno diferente do sistema AB felino. Os eritrócitos dos animais B aglutinaram-se em contato com plasma dos animais A, como o esperado. Os eritrócitos dos animais A cruzados com o plasma de animais do mesmo tipo sanguíneo não sofreram alterações de aglutinação tanto macro quanto microscopicamente, excluindo, portanto, a incompatibilidade dos mesmo por decorrência de algum antígeno eritrocitário não pertencente ao sistema AB. Ainda que nos estudos de Weinstein (2007) e posteriormente de McClosky et al. (2018) tenham sido encontrados antígenos não pertencentes ao grupo AB, esse achado difere do presente estudo, pois não se encontrou incompatibilidade.

Como dito anteriormente, a técnica de fenotipagem utilizada neste estudo foi o método de tubo, que é considerado historicamente o padrão ouro para sorotipagem felina. Vários estudos no Brasil e ao redor do mundo utilizaram o método para a realização de tipagem sanguínea, como Arikan (2006) na Turquia, Fosset (2014) no Canadá e Mendes (2013), Teixeira-Pinto (2016) e Sorgatto (2017) no Brasil. Essa técnica é amplamente utilizada por ser eficaz e de baixo custo (SETH, 2011). Embora a metodologia em coluna de gel seja padronizada nos

laboratórios e também com um grau de especificidade e sensibilidade elevado, os custos para realização desta técnica e a necessidade de equipamentos específicos dificultam a realização da mesma. O método card é bastante utilizado em diversos estudos como os de Malik (2005) e Vieira (2017) na Península Ibérica, por ser rápido e muito eficaz, porém de um custo mais elevado quando comparado com o método em tubo de ensaio.

É importante mencionar que, apesar da porcentagem de animais de fenótipo B nesse estudo seja pequena, os animais possuem um importante significado emocional para seus tutores individualmente, e uma vez que necessitem de mesmo fenótipo sanguíneo em caso de transfusão, esse baixo número de possibilidades de se encontrar doadores compatíveis se torna um problema real e dramático. Portanto, devido a sua raridade se faz necessária a conscientização dos profissionais da área assim como a realização de fenotipagem entre os animais dessa mesma região e ampla divulgação dos resultados, assim como se possível, colocar esses tutores de gatos com fenótipos incomuns em contato entre si, para sanar possíveis necessidades futuras. Nesse estudo, um dos animais B veio à óbito. Com relação aos outros 2, os tutores foram colocados em contato.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos através do estudo mostraram que, na microrregião de Ilhéus-Itabuna no estado da Bahia, a frequência dos antígenos sanguíneos dos felinos comporta-se de acordo à

maioria dos estudos no Brasil e ao redor do mundo, com prevalência do tipo sanguíneo A sobre os sorotipos B e AB.

O resultado do teste cruzado entre animais de mesmo tipo sanguíneo (A) não revelou nenhum antígeno diferente do sistema AB sanguíneo, mostrando assim compatibilidade entre os animais A testados.

A realização de tipagem sanguínea é extremamente importante para a medicina de felinos, a fim de que se evite complicações que podem levar felinos a óbito por reações transfusionais.

AGRADECIMENTOS

À Dra Luciana Lacerda pelos reagentes generosamente fornecidos.

REFERÊNCIAS

- Arikan, S., Duru, S.Y., Gurkan, M., Agaoglu, Z.T. & Giger, U. 2003. Blood type A and B frequencies in Turkish Van and Angora cats in Turkey. *J. Vet. Med.* 50(6): 303-306 <Doi: 10.1046/j.1439-0442.2003.00536.x >< PMid:12887623>
- Arikan S., Gurkan M., Ozaytekin E., Dodurka T. & Giger U. 2006. Frequencies of blood type A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Turkey. *J. Small Anim. Pract.* 47(1):10-13. < PMid: 16417604>
- Auer, L. & Bell, K. 1983. Transfusion reactions in cats due to AB blood group incompatibility. *Res. Vet. Sci.* 35(2):145-152 < Doi:10.1016/S00345288(18)32171-4 > < PMid:6635340>
- Auer L. & Bell K. 1981. The AB blood group system of cats. *Anim. Blood. Groups and Biochem. Genet.* 12(4):287-297 < PMid:7342803>
- Barrot, A.C., Buttin, R., Linsart, A., Bachy, V., Guidetti, M. & Blais, M.C. 2017. Frequency of feline blood types in non pedigree cats in France. *Rev. Med. Vet.* 168(10-12):235-240.
- Casal, M. L., Jezyk, P. E. & Giger, U. 1996. Transfer of colostral antibodies from queens to their kittens. *Am J. Vet. Res.* 57(11):1653-1658. < PMid:8915447>
- Fosset, F. T. J., Blais, M. C. 2014. Prevalence of feline blood groups in Montreal area of Quebec, Canada. *Can. Vet. J.* 55(2):1125-1128. < DOI: 10.1177/2055116917727693> < PMid: 24381340>
- IBGE 2013- População de animais de estimação no Brasil. Available at < <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/camaras-setoriais-tematicas/documentos/camaras-tematicas/insumos-agropecuarios/anos-anteriores/ibge-populacao-de-animais-de-estimacao-no-brasil-2013-abinpet-79.pdf>> Accessed on Dec 28, 2018.
- IBGE 2010- Censo demográfico. Available at < <https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>> Accessed on Dec, 28, 2018.
- Holmes, R. 1950. Blood groups in cats. *J Physiol.* 111(3-4):61.
- Hosgood, G. 1990. Blood transfusion: A historical review. *J Am Vet Med Assoc.* 197(8):998-1000 < PMid:2243052>
- Giger U., Bücheler J. & Patterson D.F. 1991. Frequency and inheritance of A and B blood types in feline breeds of the United States. *J. Heredity* 82(1):15-20. <Doi: 10.1093/jhered/82.1.15>
- Giger U., Kilrain C.G., Filippich L.J. & Bell K. 1989. Frequencies of feline blood groups in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 195(9):1230- 1232. <PMid:2584120>
- Griot-Wenk, M.E. & Giger, U. 1995. Feline transfusion medicine: Blood types and their clinical importance. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 25(6):1305-1322 < [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(95\)50156-1](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(95)50156-1)>< PMid: 861926>

- Gurkan M., Arıkan S., Ozaytekin E. & Dodurka T. 2005. Titres of alloantibodies against A and B blood types in non-pedigree domestic cats in Turkey: assessing the transfusion reaction risk. *J. Feline Med. Surg.* 7(5):301-305. <Doi:10.1016/j.jfms.2005.03.003 > <PMid:15914059 >
- Karadjole, T., Kovačević, I., Samardžija, M., Babić, T., Kreszinger, M., Radišić, B., Harapin, I. & Bedrica, L. 2016. Blood groups in cats in the city of Zagreb. *Vet. Arhiv.* 82(2): 209-216.
- Kehl, A., Heimberger, K., Langbein-Detsch, I., Boehmer, S.; Raj, K.; Mueller, E. & Giger, U. 2018. Molecular characterization of blood type A, B and C (AB) in domestic cats and a CMAH genotyping scheme. *Plos One.* 13(9):1-13 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204287> <PMid:30235335>
- Knottenbelt C.M. 2002. The feline AB blood group system and its importance in transfusion medicine. *J. Feline Med. Surg.* 4(2):69-76. <Doi:10.1053/jfms.2001.0162 ><PMid:12027505 >
- Knottenbelt C.M., Addie D.D., Day M.J. & Mackin A.J. 1999. Determination of the prevalence of feline blood types in the UK. *J. Small Anim. Pract.* 40(3):115-118. <PMid:10200921>
- Lacerda L.A., Oliveira S.T., Guerra T.A., Stein G.G. & González F.H.D. 2008. Prevalência dos tipos sanguíneos A, B e AB em gatos domésticos mestiços da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 45(Supl.):46-53. <Doi: 10.11606/S1413-95962008000700006>
- Malik R., Griffin D.L., White J.D., Rozmanec M., Tisdall P.L., Foster S.F., Bell K. & Nicholas F.W. 2005. The prevalence of feline A/B blood types in the Sydney region. *Aust. Vet. J.* 83(1/2):38-44. <PMid:15971816>
- Marques C.F.S. 2010. Frequência do antígeno eritrocitário dea 1.1 em cães e dos antígenos eritrocitários A, B e AB em felídeos de Lisboa, Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa. 81p.
- McClosky, M.E., Brown, D.C., Weinstein, N.M., Chappini, N., Taney, M.T., Marryot, K. & Callan, M.B. 2018. Prevalence of naturally occurring non-AB blood type incompatibilities in cats and influence of crossmatch on transfusion outcomes. *J. Vet. Intern. Med.* 32:1934-1942. < DOI: 10.1111/jvim.15334>
- Medeiros M.A.S., Soares A.M., Alviano D.S., Ejzemberg R., Silva M.H. & Almosny N.R. 2008. Frequências de feline blood types in the Rio de Janeiro area of Brazil. *Vet. Clin. Pathol.* 37(3):272-276. <doi: 10.1111/j.1939-165X.2008.00051.x.>
- Mendes, R.S., Gurjão, T.A., Souza, A.P., Lacerda, L.A. & Silva, R.M.N. 2013. Frequência dos antígenos eritrocitários do sistema AB em felinos domésticos no estado da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 33(6):780-784. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2013000600015>
- Seth, M., Jackson, V. & Giger, U. 2011. Comparison of five blood-typing methods for the feline AB blood group system. *J. Vet. Res.* 72(2):203-209 <doi: 10.2460/ajvr.72.2.203 > <PMid: 21281194>
- Silva, P.B., Monteiro, M.V.B., Silva, R.R., Albuquerque, M.R., Pereira, A.C.A., Carreira, A.S. & Monteiro, F.O.B. 2016. Frequência dos tipos sanguíneos de gatos domésticos oriundos do estado do Pará, Brasil. *Act. Vet. Bras.* 10(4):378-382.
- Sorgatto, S., Oliveira, B.B., Godoy, K.C.S., Antunes, T.R., Lacerda, L.A. & Souza, A.I. 2017. Frequência dos tipos sanguíneos de gatos domésticos mestiços no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Med. Vet. (UFRPE)*, 11(3):172-178. < https://doi.org/10.26605/medvet-n3-1778>.
- Souza, H.J.M. 2003. Coletâneas em medicina e cirurgia felina. Rio de Janeiro: LF Livros.
- Stieger K., Palos H. & Giger U. 2005. Comparison of various blood-typing methods for the feline AB blood group system. *Am. J. Vet. Res.* 66(8):1393-1399. < https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1393 > > <PMid:16173483>
- Tasker, S., Barker, E.N., Day, M.J., Helps.C.R. 2014. Feline Blood genotyping versus phenotyping, and detection of non- AB blood

type incompatibilities in UK cats. *J. Small Anim. Pract* 55:185-189 < [https://DOI: 10.1111/jsap.12180](https://doi.org/10.1111/jsap.12180) >

Teixeira-Pinto, A.B., Medeiros, M.A.S., Jardim, M.P.B. & Albernaz, A.P. 2016. Frequency of blood groups and titers of alloantibodies in domestic cats. *Ciênc. Anim. Bras.* 17(2):222-235.<Doi: 10.1590/1089-6891v17i213453>

Vieira, S.M., Ferreira, R.R.F., Matos, A.J.F., Cardoso, I.M., Graça, R.M.C., Soares, A.R.P.B., Blaisi-Brugué, C., Sánchez, I.M. & Gopegui, R.R. 2017. Distribution of feline AB blood types: a review of frequencies and its implications in the Iberian Peninsula. *JFMS Open Rep.* 3(2):2055116917727693 < Doi:10.1177/2055116917727693> < PMid:28975035>

Weinstein N.M., Blais M.C., Harris K., Oakley D.A., Aronson L.R. & Giger U. 2007. A newly recognized blood group in domestic shorthair cats: The Mik red cell antigen. *J. Vet. Intern. Med.* 21(2):287-292 < PMid:17427390>

Zheng, L., Zhong, Y., Shi, Z. & Giger, U. 2011. Frequencies of blood types A, B and AB in non-pedigree domestic cats in Beijing. *Vet. Clin. Path.* 40(4):513-517 < doi: 10.1111/j.1939-165X.2011.00371.x > < PMid: 22092346>

ANEXO 1

FORMATAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO DO TRABALHO

Pesquisa Brasileira Veterinária

Objective and editorial policy

Papers should be submitted by ScholarOne link <<http://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>> through the site: www.pvb.com.br

Papers should contain original research results not yet published or considered for publication in other journals.

In spite that Short Communications are not accepted, there is no minimum limit for the number of pages, however the article should contain the necessary details about experiments or methodology used in the study.

Papers are the responsibility of the authors, however the right is reserved for the Editor to suggest or request modifications following peer review.

Articles submitted are peer-reviewed and accepted for publication with two favorable opinions or rejected by two unfavorable opinions.

Paper charge of U\$ 480.00 is charged, by PayPal invoice sent to the author for correspondence, when the article is accepted. There is no submission fee and article evaluation.

The copyrights of the articles accepted for publication remain with the authors.

Papers should always be submitted according to the style of the journal (www.pvb.com.br):

1. Headings. Papers should be organized into Title, Authors names, ABSTRACT, INDEX TERMS, RESUMO e TERMOS DE INDEXAÇÃO (Summary and Index Terms in Portuguese, not necessary for articles in English submitted from foreign countries), INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, CONCLUSIONS (or combination of the last two), Acknowledgements, and REFERENCES. The list of figure legends, the actual Tables and Figures should be submitted at the end of the article.

a) **Title** this should be concise and indicate the content of the paper;

b) **Authors** should abbreviate their names (if long) and use them systematically for their scientific identification and citation. First name should always be extensive to help access to *Curriculum Lattes* of CNPq. For example, Paulo Fernando de Vargas Peixoto, uses Paulo V. Peixoto (inverse, Peixoto P.V.); Franklin Riet-Correa Amaral, uses Franklin Riet-Correa (inverse, Riet-Correa F.); The complete professional addresses of the authors should be placed on the footnote of the first page, with the corresponding author's e-mail;

c) **ABSTRACT** should contain the same information presented in the Portuguese Summary, but can be more extensive. Both should be written concisely using the past tense to include what was done and what were the most important results and conclusions. Layout and type size should follow the normal format shown in the journal (www.pvb.com.br). In English papers, the title in Portuguese should be given in bold face and among brackets after the word RESUMO, when this should be the case.

d) **INTRODUCTION** should be brief, with specific bibliographical citations, and should explain and justify the objective of the study;

e) **MATERIALS AND METHODS** should contain sufficient detail to allow the repetition and verification of experimental work. Animal experiments should have approval by the local Ethics Commission;

f) **RESULTS** should contain the concise presentation of the data obtained. Tables should avoid superfluous data, presenting, whenever possible, the averages of repetitions. Complex data is often best expressed with graphs (Figures) rather than in extensive Tables. Please avoid repetition of data in Tables and Figures;

g) **DISCUSSION** should draw attention to the important results and relate them to the literature. Avoid speculation and references to unpublished data;

f) **CONCLUSIONS** should only be based on the results presented in the paper;

g) **Acknowledgements** should be brief and should not appear in the text or in foot notes;

h) **REFERENCES** should only include literature mentioned in the paper and should be ordered alphabetically by the first author's last name. This name should be followed by those of the other authors (all in lower case), the year, the title of each publication and the name and detail of volume, issue and pages of the journal or book. These should be in abbreviated form (or extensive if there is some doubt) following examples in recent issues of the journal (www.pvb.com.br).

2. Text

a) **Layout and format** should be Cambria and follow the example of the journal's latest issues (www.pvb.com.br). The text should be written in one column followed by all the Tables, legends of figures and the actual figures. Figures (including graphs) should be furnished as Archives separately from the text; they should be introduced into the text through "to Insert" of Word, because copied and inserted images lose the information of the program where they were generated, what results always in bad quality;

b) **Style** of the papers should be clear and concise. This is helped by using short precise sentences with ample use of correct punctuation and

paragraphs. Language should be as far as possible impersonal and in the past tense. References to footnotes should be superscript continuous Arabic numbers thrown to the foot of the page. Tables and Figures should be also referred by numbers. Abstract and Resumo should be written in only a single paragraph and not contain citations. Scientific names should be written in extensive form when they appear for the first time in each chapter.

c) **Acronyms and abbreviations** for the names of institutions should be put between parentheses and preceded by the extensive name the first time they are used;

d) **Literature citations** should be made by the system “author and year”. Two authors’ papers should be mentioned by the names of both, and papers of three or more authors by the name of the first followed by “et al.” and the year; if two articles cannot be distinguished by those elements, differentiation will be made through the insertion of small letters (a,b,c) immediately after the years. Articles not consulted by the author(s) in the complete original form should be differentiated by mentioning at the end of the respective reference: “(Abstract)” or “(Apud So-and-so and the year)”; the reference of the article which served as source, should be included in the list only once. Citation of personal communications and not yet published articles in the text is done only giving Name and Year, and in the list of References additionally is given the author’s Institution in brakes. In the citation of papers within brakes, commas are not used between the author’s name and the year, nor semicolon after the year; the separation between the papers is made by commas, as for example: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et al. 2007);

e) the list of References with names of the authors written in high and low box, and scientific names in italic, should be in accordance with the pattern adopted in the last issue of the journal, inclusively the order of their elements.

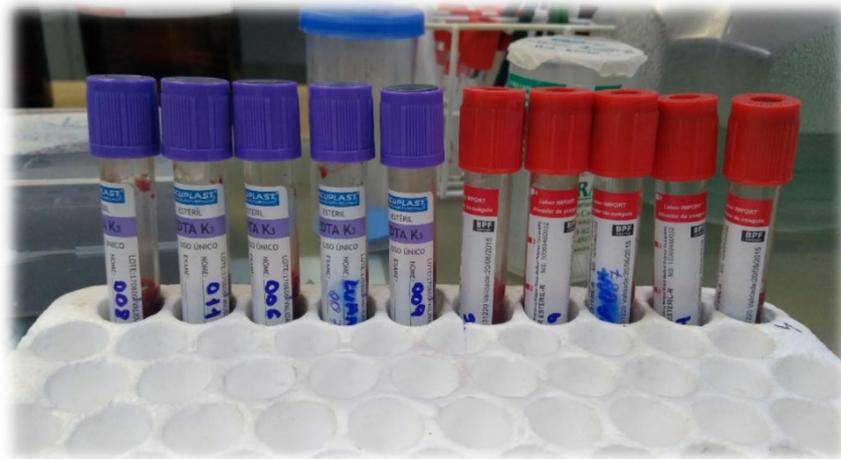
3. Figures (photos, graphs, drawings or maps) should be preferably submitted in their original form by electronic means; when photographs were obtained

with a digital camera (with extension “jpg”), the archives should be sent without treatment or alterations. The graphics must be produced in 2D, with columns in white, gray and black, bottomless and without lines. The key of the adopted convention should be included in the area of the Figure; titles above the illustration should be avoided.

4. Legends of the Figures should contain enough information for these to be comprehensible, and will be presented at the end of the submitted paper.

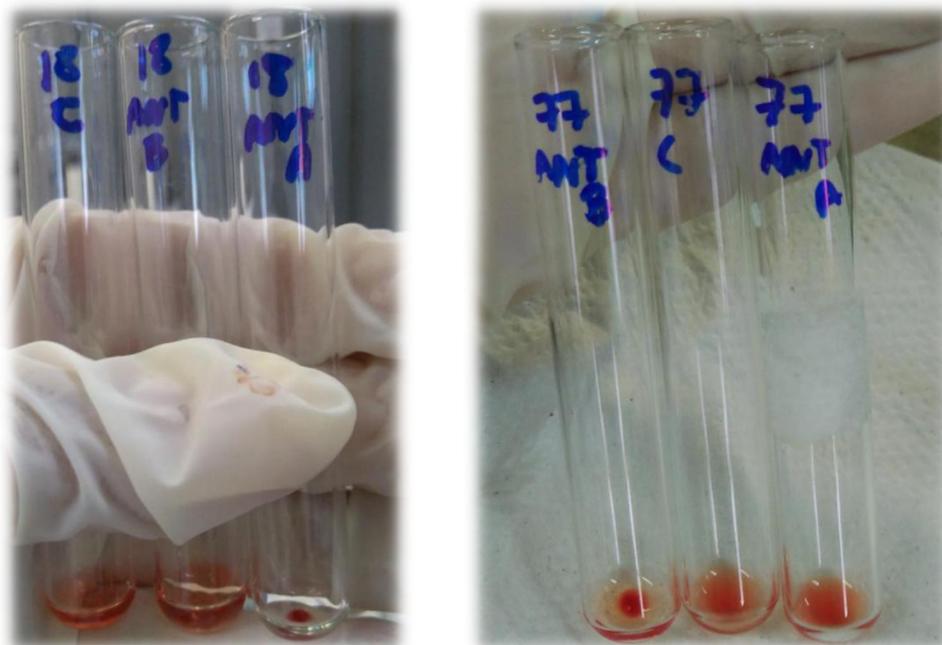
5. Tables should be explanatory for themselves and put at the end of the text. Each one should have its complete title on bold and the heading should be between two long lines, one above and the other below. There are no vertical lines and no grey bottom. The call signs should be alphabetical, beginning preferably with “a” in each Table; the notes should be thrown directly below the respective Table, from which they should be separated by a short line, on the left.

ANEXO 2



Amostras de sangue felino em tubo de ensaio após coleta em repouso até atingir temperatura ambiente para início do processo de fenotipagem.

ANEXO 3



Leitura de aglutinação em tubo de ensaio das amostras 18 e 77. com resultados de sorotipos A e B, respectivamente.



Resultado de fenotipagem reversa para confirmação de animal do tipo sorotipo B (animal 77).