

Tipificación sanguínea para la determinación de compatibilidad en perros (*Canis lupus familiaris*)

Blood Typing for Determination of Compatibility in Dogs (*Canis lupus familiaris*)

Nota Técnica

Ángel Emilio Narváez-Rueda^{1*} , Juan Carlos Armas-Ariza¹  y Matilde Lorena Zapata-Saavedra² 

¹Universidad Católica de Cuenca. Cuenca, Azuay, Ecuador. ²Universidad Técnica de Machala. Machala, El Oro, Ecuador

*Correo electrónico: angel.narvaez.00@est.ucacue.edu.ec

RESUMEN

La tipificación sanguínea es un método de identificación de antígenos en la superficie de los eritrocitos. Los tipos de grupos sanguíneos sangre pueden ser evaluados utilizando pruebas rápidas para la tipificación sanguínea en perros; en el presente trabajo se evaluaron un total de 103 perros (*Canis lupus familiaris*). Los animales en estudio se agruparon de acuerdo a la raza y sexo. Se tipificó a cada uno de los perros con la prueba comercial Kabb Dog Blood[®], se utilizó este kit ya que hay otro estudio acerca de su especificidad y sensibilidad que avala su uso. Después de identificar los tipos sanguíneos, se escogieron a 3 donantes, uno de cada grupo DEA 1.1, DEA 1.2 positivo y DEA 1- negativo para realizar la prueba cruzada con los 100 perros restantes y determinar la compatibilidad *in vitro*. Los resultados obtenidos con los 103 perros fueron 93,2 % con DEA 1.1 positivos; 4,9 % fueron DEA 1.2 y el 1,9 % fueron 1- negativo. Se confirmó que el tipo de sangre DEA 1- es el donante universal dado que en el presente estudio no hubo ningún tipo de aglutinación al cruzarla con los otros tipos de sangre DEA 1.1 y DEA 1.2. Del total de las pruebas cruzadas realizadas, el 5,3 % fueron incompatibles y el 94,7 % compatibles. Se destaca la eficacia, rapidez y lo sencillo que fue realizar la prueba, aproximadamente de dos minutos (min), frente al método de pruebas cruzadas que lleva 30 min aproximadamente, con lo que se ahorraría tiempo en casos de emergencia en donde corre peligro la vida del paciente.

Palabras clave: Compatibilidad sanguínea; transfusión sanguínea; tipificación sanguínea; DEA 1.1; antígeno eritrocitario

ABSTRACT

Blood typing is a method of identifying antigens on the surface of red blood cells. Blood types can be evaluated using rapid kits for red typing in dogs. In the present work, 103 dogs (*Canis lupus familiaris*) were evaluated. The animals under study were grouped according to breed and sex. Each dog was typed with the commercial kit Kabb Dog Blood[®] (Korea). After identifying the blood types, three donors from groups DEA 1.1, DEA 1.2, and DEA 1- were chosen for crossmatching with the remaining 100 dogs to determine *in vitro* compatibility. The results obtained with the 103 canine patients were 93.2 % DEA 1.1 positive, 4.9 % were DEA 1.2, and 1.9 % were 1-negative. Therefore, it was confirmed that the blood type DEA 1 was the universal donor since there was no agglutination in the present study when crossed with the other blood types of DEA 1.1 and DEA 1.2. Of the total crossmatches performed, 5.3 % were positive, and 94.7 % were negative. It was emphasized the efficiency, speed, and simplicity of the test, which takes approximately two minute (min) compared to the crossmatching method, which takes approximately 30 min, thus saving time in emergency cases where the patient's life is in danger.

Key words: Blood compatibility; blood transfusion; blood typing; DEA 1.1; erythrocyte antigen

INTRODUCCION

La tipificación sanguínea es un método para la identificación de antígenos en la superficie de los eritrocitos. Los tipos de grupo sanguíneo pueden ser evaluados utilizando pruebas rápidas que existen en el mercado específica para perros (*Canis lupus familiaris*) para tipificación sanguínea [9]. Los perros no tienen anticuerpos naturales contra los antígenos eritrocitarios naturales del mismo Dog Erythrocyte Antigen (DEA), pero eventualmente se sensibilizan después de la primera transfusión incompatible. El conocimiento de los grupos sanguíneos caninos, la inmunogenicidad y la incompatibilidad es clínicamente útil para realizar transfusiones seguras sin riesgo de sensibilización o el riesgo de desarrollar una reacción a la transfusión. La determinación de los antígenos del grupo sanguíneo en perros usando pruebas de tipificación o antisueros es considerablemente menor debido a que rara vez se repiten las transfusiones de sangre al mismo perro receptor [1].

Se han reportado en la especie hasta ocho grupos sanguíneos: DEA 1.1, DEA 1.2, DEA 3, DEA 4, DEA 5, DEA 6, DEA 7, DEA 8. De todos ellos, el que tiene mayor poder antigénico y por lo tanto provoca el mayor riesgo de reacciones adversas es el DEA 1.1 [6]. En base a estos datos, el donante ideal será un perro negativo al antígeno DEA 1.1. (Donante "universal") [2].

Mientras que la tipificación de sangre detecta la presencia de los antígenos del grupo sanguíneo en la membrana eritrocitaria, las pruebas cruzadas determinan la presencia de anticuerpos en el plasma del donante y receptor, que pudieran provocar reacciones en el momento de la transfusión [3, 4]. Por lo tanto, se recomienda realizar esa prueba siempre que exista algún riesgo de incompatibilidad o cuando no sea posible determinar el grupo sanguíneo en perros que ya hayan recibido una transfusión previa [3].

La prueba de reacción cruzada mayor, comprueba si el receptor posee anticuerpos frente a los antígenos eritrocitarios del donante (poniendo en contacto plasma del receptor con glóbulos rojos del donante), mientras que la menor comprueba si el plasma del donante contiene anticuerpos frente a los antígenos de los eritrocitos del receptor [3]. También del mismo modo se debe incluir una reacción control, en la que se mezclan eritrocitos y plasma del receptor. Si se produce hemólisis y/o aglutinación en la reacción cruzada mayor, no se podrá realizar la transfusión, debido a que el receptor tiene anticuerpos contra los eritrocitos del donante. Si existe hemólisis y/o aglutinación en la reacción cruzada menor, esto significa que el donante tiene anticuerpos contra los eritrocitos del receptor, pero la cantidad incluida en la sangre a transfundir no implica riesgos graves, siempre y cuando sea una cruz de aglutinación, por lo que se podrá realizar la transfusión, aunque vigilando estrechamente al paciente. El grado de aglutinación se expresa de 1+ a 4+ [3].

Para la correcta realización de las pruebas cruzadas hay que lavar los eritrocitos del donante y receptor varias veces [3]. Por lo que pueden no ser prácticas en una situación de urgencia. En estos casos, aunque sean mucho menos fiables, se pueden realizar unas pruebas de compatibilidad simplificadas, sin lavar los eritrocitos: simplemente se centrifuga la sangre del donante y del receptor, y se realizan las tres reacciones (mayor, menor y control) sobre tres portaobjetos mezclando en cada uno de ellos 3 gotas de plasma y 1 gota de eritrocitos, dejando incubar 2-5 minutos (min), y mirando al microscopio para ver si existe aglutinación [3]. Las pruebas comerciales que se usan actualmente son rápidas y fiables, por lo que resultan muy recomendables en situaciones de urgencia [4].

El objetivo del trabajo fue comparar la eficiencia y la precisión de la prueba comercial para perros KABB Dog Blood Typing Kit® (Suseong-gu Daegu Korea) como herramienta diagnóstica en transfusiones sanguíneas.

MATERIALES Y METODOS

Selección de la unidad experimental

Se evaluaron un total de 103 perros (*Canis lupus familiaris*) que llegaron a la Clínica Veterinaria Scooby Doo en la Provincia de Santo Domingo de los Tsachilas, Ecuador, en el tiempo que duro el estudio, a los cuales se le extrajo 1 mililitro (mL) de sangre con anticoagulante con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) proveniente de la vena cefálica. Los animales en estudio se agruparon de acuerdo a la raza y sexo.

Identificación del grupo tipo sanguíneo

Se tipificó a cada uno de los perros en el estudio con el kit comercial Kabb Dog Blood, se utilizó este kit ya que hay otro estudio acerca de su especificidad y sensibilidad que avala su uso [8]. Los tipos de sangre 1.1 y 1.2 son muy importantes para la transfusión de sangre. KABB BIO desarrolló con éxito el tipo de sangre canina que subdivide el DEA1 (antígeno eritrocitario canino) por primera vez en todo el mundo basándose en el hecho científico de que dos tipos de sangre diferentes (1.1 y 1.2) no pueden estar presentes en el mismo glóbulo rojo [8].

Esta prueba comercial, se encuentra impregnada con un anticuerpo monoclonal seco anti 1.1 y anti 1.2 en sus almohadillas correspondiente, las cuales permiten determinar el tipo de grupo sanguíneo a la que pertenece la muestra (FIG. 1).

El procedimiento de la prueba consistió en añadir una gota de sangre en cada uno de los cuadros, DEA 1.1, DEA 1.2, y control. Posteriormente se le añadió una gota de solución salina en cada uno de los pocillos anteriormente mencionados, se homogenizó la muestra de cada uno y se dejó reposar durante 2 min, luego se procedió a realizar la lectura y catalogar según la aglutinación presentada.

Pruebas cruzadas

Después de identificar los tipos sanguíneos, se escogieron a 3 donantes del grupo DEA1.1, DEA1.2 positivos y DEA 1- negativo, se formaron tres grupos para realizar la prueba cruzada con los 100 perros restantes y determinar la compatibilidad *in vitro*.

- Grupo 1: Donador DEA 1.1 × Receptor DEA 1.1
- Grupo 2: Donador DEA 1.2 × Receptor DEA 1.1
- Grupo 3: Donador DEA 1- × Receptor DEA 1.1 - 1.2

Para ello se obtuvo 100 mL de sangre de los donantes en bolsas de transfusión con anticoagulante (CPDA-1: citrato-fosfato-dextrosa-adenina, marca Terumo, Japón) que posteriormente fueron refrigerados a 4°C; (Indurama, RI-375CR, Ecuador); de los receptores se obtuvo 3 mL de sangre con anticoagulante. Las reacciones negativas en las pruebas cruzadas mayor y menor indican compatibilidad. La incompatibilidad fue diagnosticada, si al menos una de las pruebas arrojó valores positivos. Los resultados positivos en el autocontrol deben ser investigados o volver a repetir la prueba. Los donantes que presentan una prueba de autocontrol positiva deben ser excluidos.

Las muestras sanguíneas de los donadores y receptores se centrifugaron a 1.107 G (mediante centrifuga de la casa Hangzhou

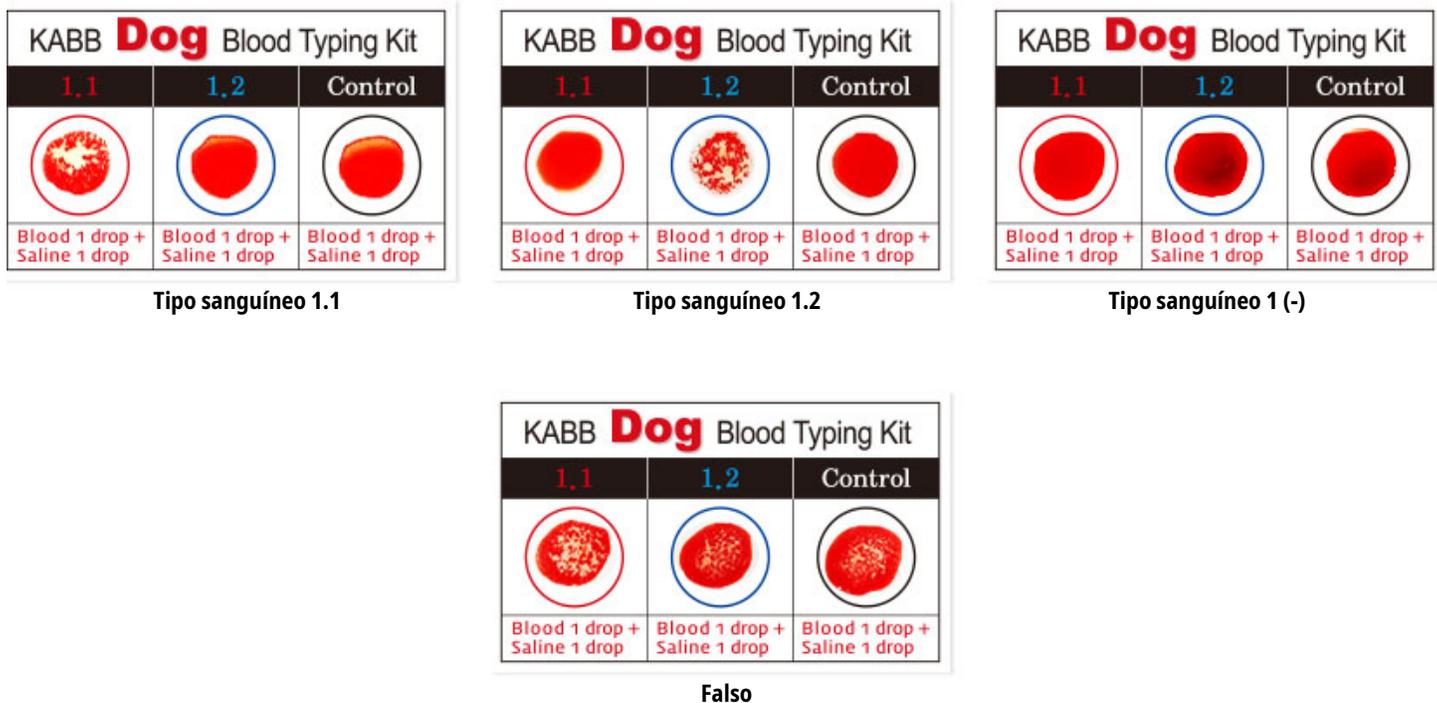


FIGURA 1. Kit comercial para determinación de grupos sanguíneos en caninos Kabb Dog Blood® (Korea)

Weirui Biological Technology Co., Ltd. marca 800D de fabricación China) por 10 min, con el objeto de separar los glóbulos rojos y el plasma. El plasma se almacenó en tubos debidamente identificados. Luego de realizada la centrifugación se procedió a preparar una suspensión de glóbulos rojos al 4 %. Para realizar la suspensión se lavaron los glóbulos rojos de la siguiente manera:

A los glóbulos rojos que quedaron luego de la centrifugación de la muestra se les agregó 3 mL de solución fisiológica, se homogenizó la muestra, se centrifugó a 1.107 G por 5 min y se decantó el sobrenadante; esta operación se repitió 3 veces.

Para realizar la suspensión de glóbulos rojos al 4 % se tomaron 0,2mL de los glóbulos rojos lavados y se mezclaron con 4,8ml de solución fisiológica.

La suspensión de glóbulos rojos lavados se almacenó en tubos debidamente identificados. Una vez realizado el procedimiento anterior se procedió a realizar las pruebas cruzadas de la siguiente manera:

- » Prueba mayor de compatibilidad: 0,1 mL de la suspensión de glóbulos rojos del donador + 0,1 mL de plasma del receptor.
- » Prueba menor de compatibilidad: 0,1 mL de la suspensión de glóbulos rojos del receptor + 0,1 mL de plasma del donador.
- » Control del donador: 0,1 mL de la suspensión de glóbulos rojos del donador + 0,1 mL de plasma del donador.
- » Control del receptor: 0,1 mL de la suspensión de glóbulos rojos del receptor + 0,1 mL de plasma del receptor.

La muestra se incubó a temperatura de 28 y 5°C por 15 min, luego se centrifugó a 1.107 G por 15 segundos(seg) y, por último, se interpretó el resultado.

La lectura de la muestra se realizó de la siguiente forma:

Se examinó la muestra en busca de hemólisis al observar la presencia de hemoglobina libre en el sobrenadante. Esto se realiza comparando el color del sobrenadante de la muestra con el del control.

Se examinó la muestra en busca de hemaglutinación al agitar gentilmente el tubo y observar la formación de un botón o agrupación de células. La aglutinación se calificó de la siguiente manera:

- 4+: Un agregado sólido de células
- 3+: Varios agregados grandes
- 2+: Grandes aglutinaciones con agrupamientos más pequeños
- 1+: Muchos aglutinamientos pequeños y células libres en el fondo
- 0: Sin aglutinaciones

Todas las pruebas consideradas macroscópicamente como negativas a la hemaglutinación, se confirmaron microscópicamente con poco aumento (10X).

La prueba es negativa o compatible cuando los eritrocitos se suspenden fácilmente. Una prueba positiva o incompatible puede presentar hemólisis, hemaglutinación o ambas, todo este procedimiento dura 30 minutos aproximadamente.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los grupos sanguíneos y las pruebas cruzadas se caracterizaron utilizando estadística descriptiva mediante el software SPSS [12].

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos se presentan en la TABLA I; en la misma se aprecia que de los 103 perros estudiados, el 93,2 % correspondieron al grupo DEA 1.1 positivos; el 4,9 % fueron DEA 1.2 positivo y el 1,9 % fueron DEA 1- negativo. Estos resultados son semejantes a los expuestos por Riyaz y col. en el 2017 [11], donde indicaron que un 78 % de los perros estudiados en la ciudad de Punjab, India, fueron DEA 1 positivo este resultado podría estar influenciado por la presencia de una mayoría de razas con alta prevalencia de DEA 1 positivo.

Hale [5], en su estudio describió una prevalencia del 63,5 % de perros mestizos positivos para DEA 1,1. Un estudio similar realizado por Medina y col. en 2017 [10] en un banco de sangre veterinario en Italia, donde se evaluaron 7.414 muestras de sangre de perros, de los que reportaron que hay una prevalencia de 61,2 % DEA 1 positivo en este banco de sangre [10]. Sin embargo, Kessler y col. [7], señalaron que la falta de aloanticuerpos naturales, que ocurren de forma natural y clínicamente relevantes, pueden descartar la necesidad de tener sangre específica tipificada para una primera transfusión [7].

Pruebas cruzadas

Los resultados obtenidos se presentan en la TABLA II. En el grupo 1, en la prueba mayor y menor hay reacciones negativas, es decir son 100 % compatibles; en el grupo 2 se obtuvo 16 perros positivos en la prueba menor obtuvieron un 75 % de compatibilidad, los 84 perros restantes tuvieron reacciones negativas en las prueba mayor y menor, por lo que son 100 % compatibles; en el grupo 3, en la prueba mayor y menor hay reacciones negativas con un 100 % de compatibilidad. El resultado final arrojó el 94,7 % de los perros son compatibles con los donadores y el 5,3 % incompatibles.

Reacciones de las pruebas cruzadas

La bibliografía cita que los perros no poseen anticuerpos regulares contra el DEA 1.1 en títulos significativos como para dar una reacción de incompatibilidad inmediata de tipo inmunológica en la primera transfusión; según los resultados obtenidos se presentaron casos positivos (presencia de aglutinación 1+) en perros sin transfusión previa, lo cual pudo haber producido reacciones transfusionales importantes como anafilaxis o hemólisis, de no haber realizado las pruebas cruzadas. La prueba cruzada es una técnica sencilla, de fácil

TABLA I
Tipos Sanguíneos encontrados en el estudio

Raza	Número de perros tipificados	Tipo Sanguíneo					
		DEA 1.1		DEA 1.2		DEA 1-	
		Hembra	Macho	Hembra	Macho	Hembra	Macho
Mestizo	41	26	9	2	2	1	1
Teckel	1	1	0	0	0	0	0
Bull Dog Frances	1	1	0	0	0	0	0
Bull Dog Ingles	3	3	0	0	0	0	0
Pastor Belga	1	1	0	0	0	0	0
Rottweiler	4	2	2	0	0	0	0
Shitzu	3	1	1	0	1	0	0
Labrador	4	4	0	0	0	0	0
Pekines	1	1	0	0	0	0	0
Terranova	1	1	0	0	0	0	0
Lhasa Apso	1	1	0	0	0	0	0
Pitbull	6	2	4	0	0	0	0
Golden	1	1	0	0	0	0	0
Husky	3	3	0	0	0	0	0
Yorkshire Terrier	1	0	1	0	0	0	0
Beagle	1	1	0	0	0	0	0
Pincher	3	2	1	0	0	0	0
Doberman	3	2	1	0	0	0	0
Caniche	13	5	8	0	0	0	0
Schnauzer	3	2	1	0	0	0	0
Bully	4	3	1	0	0	0	0
Cocker	3	2	1	0	0	0	0
Bull Terrier	1	1	0	0	0	0	0
Total	103	96		5		2	
Porcentaje	100 %	93,2 %		4,9 %		1,9 %	

TABLA II
Pruebas Cruzadas

Grupos	Prueba Cruzada	Prueba Mayor	Prueba Menor	Positivos	Negativos
1	Donador DEA 1.1 x Receptor DEA 1.1	Negativo	Negativo	0	100
2	Donador DEA 1.2 x Receptor DEA 1.1	Negativo	Positivo	16	84
3	Donador DEA 1- x Receptor DEA 1.1 - 1.2	Negativo	Negativo	0	100
Total				16	284
Porcentaje				5,3 %	94,7 %

realización y de bajo costo que permite evidenciar compatibilidad sanguínea entre Donante y Receptor, siendo de mucha ayuda en la transfusión sanguínea (TABLA III).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

[1] BARANIDHARAN, G.R; PRATHABAN, S; NAMBI, A.P; DHANAN, J.; LUBAS, G.; MEDINA-VALENTIN, A.A. Prevalence of dog erythrocyte antigen (DEA) 1 amongst the dog blood donors at Tamil Nadu Veterinary and Animal Sciences University Animal blood bank (TABB), India. **Hematol. Transf. Internat. J.** 6(2): e10.15406. 2018.

[2] BLAIS, M.C.; BERMAN, L.; OAKLEY, D.A.; GIGER, U. Canine Dal Blood Type: A Red Cell Antigen Lacking in Some Dalmatians. **J. Vet. Intern. Med.** 21(2): 281-286. 2007.

[3] GIGER, U. Blood typing and cross-matching to ensure compatible transfusions. In: Bonagura, J.D. (Ed.). **Kirk's current veterinary therapy XIII.** Saunders Philadelphia. Pp 682-692. 2000.

[4] HALDANE, S.; ROBERTS, J.; MARKS, S.; RAFFE, M.R. Transfusion Medicine. **Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.** 26(7): 503-518. 2004.

[5] HALE, A.S. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusion medicine. **Vet. Clin. North Ame: Small Anim. Pract.** 25(6): 1323-1332. 1995.

[6] HOHENHAUS, A.E. Importance of blood groups and blood group antibodies in companion animals. **Transfus. Med. Rev.** 18: 117-126. 2004.

[7] KESSLER, R.J.; EESE, J.; CHANG, D. Dog erythrocyte antigens 1.1, 1.2, 3, 4, 7, and Dal blood typing and cross-matching by gel column technique. **Vet. Clin. Pathol.** 39(3): 306-316. 2010.

[8] LEE, J.H; GIGER, U; KIM, H.Y. Kai 1 and Kai 2: Characterization of these dog erythrocyte antigens by monoclonal antibodies. **PLOS ONE.** 12(6): e0179932. 2017. <https://doi.org/gbkw75>.

[9] MADRIZ, E.A. Manual de procedimientos para transfusiones sanguíneas en caninos. Universidad Nacional Agraria (UNA). Doctoral Dissertation. Pp 55. 2014.

[10] MEDINA-VALENTIN, AA; GAVAZZA, A; LUBAS, G. Prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1 in 7,414 Dogs in Italy. **Med. Vet. Intern.** 2017: e5914629. 2017.

[11] RIYAZ, A.B.; PRITPAL, S.D.; CHARANJIT, S.R. Prevalence of Dog Erythrocyte Antigen 1 Blood Group in Different Dog Breeds of Punjab State of India. **Philippine J. Vet. Med.** 54(1): 54-58.2017.

[12] QUEZADA, N.E.L. Estadística con SPSS, Ver. 22. Editorial Macro. Pp 75. 2014.

TABLA III

Compatibilidad e incompatibilidad de las pruebas cruzadas

Variabilidad de Prueba	Compatibilidad	Incompatibilidad
prueba mayor (-) y prueba menor (-) =	100 %	0 %
prueba mayor (-) y prueba menor (+) =	75 %	25 %
prueba mayor (+) y prueba menor (-) =	25 %	75 %
prueba mayor (+) y prueba menor (+) =	0 %	100 %

CONCLUSIONES

Mediante la presente investigación se confirmó que el tipo de sangre DEA 1- es el donante universal, ya que en el presente estudio no hubo ningún tipo de aglutinación, al cruzarla con los otros tipos de sangre DEA1.1 y DEA 1.2.

En las pruebas cruzadas realizadas en la presente investigación se observó un porcentaje de incompatibilidad sanguínea del 5,3 % y de compatibilidad del 94,7 %. El tipo de sangre que predominó en este estudio fue el DEA 1.1 positivo, con 93,2 % del total de individuos.

Se destacó la eficacia, rapidez y fácil realización de la prueba Kabb Dog Blood® (Korea), con un tiempo de aplicación aproximado de 2 min frente al método de pruebas cruzadas que lleva 30 min aproximadamente, lo cual permite ahorrar tiempo valioso en el manejo de la emergencia, en donde corre peligro la vida del paciente, no obstante, siempre será importante realizar las pruebas cruzadas antes de cada transfusión.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores certifican que no existen conflictos de intereses en el presente artículo.