

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

Determinación de la prevalencia del grupo sanguíneo DEA 1.1 y valores hematológicos de caninos (*Canis familiaris*) en el Valle Central de Costa Rica.

Modalidad: Proyecto de Graduación

Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria

Natalia Pérez Quesada

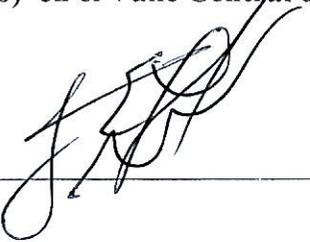
**Campus Presbítero Benjamín Núñez
2009**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Determinación de la prevalencia del grupo sanguíneo DEA 1.1 y valores hematológicos de caninos (*Canis familiaris*) en el Valle Central de Costa Rica.

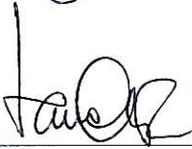
Dr. Jorge Quirós

Decano



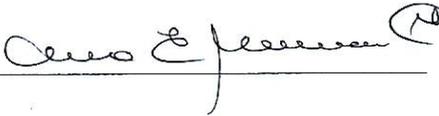
Dr. Laura Castro

Directora



Dra. Ana Meneses

Tutora



Dr. Luis Martínez.

Co-Tutor



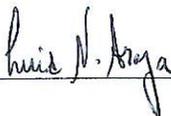
Dr. Carlos Morales

Lector



Dr. Luis N. Araya

Lector



Fecha:

DEDICATORIA

A Lucky, Tupac (1999-2008), Mirko (2007-2008) y Blacks; porque estos seres cuadrúpedos han marcado mi vida con su inigualable lealtad y cariño, haciendo que dedique mi vida a la atención de la salud y bienestar de otros como ellos; realmente son los mejores amigos que un ser humano pueda tener, aunque, nosotros no siempre lo seamos para ellos.

A todos los otros animales que exhiben rasgos de amor, generosidad, tolerancia, humildad, comprensión, fidelidad y ternura profunda...

AGRADECIMIENTOS

A Dios, porque él es quien junta las piezas del rompecabezas, haciendo posible todo en la vida; además de ser mi ejemplo a seguir de altruismo.

A mi familia, por el apoyo durante todos los años de estudio. En especial a mi papá, quien me brindó motivación y abrió las puertas al conocimiento de la medicina transfusional humana.

A Rich, porque él estuvo siempre a mi lado durante la elaboración de este trabajo, no puedo describir lo agradecida que estoy por toda la comprensión, ayuda y cariño brindada.

A mis queridos amigos, que han compartido esta experiencia de aprendizaje que nos unió y que colaboraron en este estudio, estando presentes siempre en mis pensamientos y corazón.

A la Dra. Meneses, le agradezco por identificarse con este proyecto y colaborar para hacerlo realidad, gracias por el compromiso, dedicación y toda la ayuda que me brindó.

A Luigui y Gaby, por ofrecerme siempre buenos consejos y motivación, además de atender todas mis preguntas sobre clínica y tomar en cuenta esta información para la práctica.

Al Dr. Morales, por creer en la importancia de esta investigación y buscar hacer de la medicina transfusional, en el hospital, una práctica más eficiente y segura.

Al Dr. Araya, por atender todas mis consultas con respecto al tema de inmunología y colaborar con sus conocimientos en esta área.

A la Dra. F. Saborio, encargada del Banco de Sangre del Hospital San Vicente de Paúl, por enseñarme las bases de la tipificación sanguínea en humanos.

A los propietarios de las mascotas, por valorar la importancia de este estudio y cooperar, sin lo cual, su realización no hubiera sido posible.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vi
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Historia de la medicina transfusional	1
1.1.2. Grupos sanguíneos	2
1.1.3. Sistema de antígeno eritrocitario canino (DEA)	2
1.1.4. Tipificación del DEA	5
1.1.5. Selección de donadores	6
1.1.6. Reacciones transfusionales	8
1.1.7. Reacción transfusional hemolítica aguda	8
1.1.8. Hematología	10
1.2. Justificación	11
1.3. Objetivos	13
1.3.1. Objetivo general	13

1.3.2. Objetivos específicos	13
2. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1. Selección de la población	14
2.2. Tamaño de la muestra	14
2.3. Capacitación técnica	15
2.4. Preparación de material informativo y registros	15
2.5. Toma de la muestra	16
2.6. Análisis sanguíneo	16
2.6.1. Tipificación sanguínea	16
2.6.2. Análisis hematológico	17
2.7. Recolección de datos de los análisis sanguíneos	18
2.8. Análisis estadístico	18
3. RESULTADOS	20
4. DISCUSIÓN	24
5. CONCLUSIONES	27
6. RECOMEDACIONES	28
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
8. ANEXOS	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Recomendaciones para minimizar el costo de identificar donadores universales por medio de la tipificación del DEA	7
Figura 2. Distribución por raza de la población canina del estudio	21
Figura 3. Ilustración de la prueba de compatibilidad cruzada	35
Figura 4. Distribución de las frecuencias del grupo sanguíneo DEA-1.1 por sexo y raza	36
Figura 5. Formulario utilizado para monitorear adecuadamente la transfusión sanguínea en el Hospital de Aprendizaje Veterinario en North Carolina State University	38

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Estándares internacionales de clasificación, ocurrencia e importancia de los antígenos eritrocitarios caninos	3
Cuadro 2. Descripción de los genotipos y fenotipos para el sistema del grupo sanguíneo del antígeno eritrocitario canino 1	4
Cuadro 3. Fórmula para calcular el tamaño de la muestra en función de la población objetivo	15
Cuadro 4. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 en caninos de Costa Rica	20
Cuadro 5. Clasificación según la intensidad de aglutinación del suero policlonal	20
Cuadro 6. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1, por raza	21
Cuadro 7. Frecuencia de distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 positivo, por sexo y raza	22
Cuadro 8. Estadística descriptiva y rangos referenciales de los valores hematológicos en caninos de Costa Rica	23
Cuadro 9. Métodos de tipificación sanguínea en caninos, disponibles en el mercado	34
Cuadro 10. Clasificación de las reacciones transfusionales	35
Cuadro 11. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 según varios autores	36
Cuadro 12. Rangos referenciales (RR) hematológicos de diferentes autores	37

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Acs: anticuerpos

ADN: ácido desoxirribonucleico

Ags: antígenos

CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media

CTL: conteo total de leucocitos

CTP: conteo total de plaquetas

DEA: antígeno eritrocitario canino

EDTA: ácido etilendiamino tetraacético

EMV-UNA: Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional

Fc: fragmento cristalizante (de inmunoglobulina)

GBs: glóbulos blancos

GRs: glóbulos rojos

Hb: hemoglobina

Htc: hematocrito

IgG: inmunoglobulina G

IgM: inmunoglobulina M

PBS: solución salina bufferada con fosfato

PCC: prueba de compatibilidad cruzada

RR: rango referencial

RTHA: reacción transfusional hemolítica aguda

SRD: sin raza definida

RESUMEN

En el presente estudio participaron 120 caninos, clínicamente sanos de la región central de Costa Rica, con edades entre 6 meses y diez años, de ambos sexos y de varias razas,. Los eritrocitos de los animales se tipificaron con anticuerpos policlonales anti DEA-1.1 (Midwest Animal Blood Services®), determinándose una frecuencia del grupo sanguíneo DEA-1.1, de 53.3%, en la población general; estos valores son mayores que los descritos en la literatura. También, se encontró que existe un riesgo de 24.8%, de que un perro DEA-1.1 negativo produzca anticuerpos al recibir sangre DEA-1.1 positiva y un riesgo de 13.3%, de que sufra una reacción transfusional hemolítica aguda, si ese mismo perro recibe sangre DEA-1.1 positiva al azar, por segunda vez. Se determinó la frecuencia de distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 en hembras y machos, así como en animales de raza definida y sin raza definida y se concluyó que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Con este estudio se aportan las bases para la investigación acerca de grupos sanguíneos de caninos en nuestro país y a su vez, se reportan los primeros rangos referenciales para los valores hematológicos de caninos de Costa Rica, estimados por medio de conteos manuales.

ABSTRACT

For the present study, a total of 120 clinically healthy dogs from Costa Rica`s central region were included. Their ages ranged from six months to ten years old, both sexes were represented as well as different breeds. Dogs` erythrocytes were typed with anti DEA-1.1 polyclonal antibodies (Midwest Animal Blood Services®). We found that 53.3% were DEA-1.1 positive; a frequency higher than reported by the literature. It was also calculated a 24.8% risk for a DEA-1.1 negative dogs, to produce antibodies when receiving DEA-1.1 positive blood, and a 13.3% risk for these dogs of suffering an acute hemolytic transfusion reaction, if receiving DEA-1.1 positive blood again. The frequency of the DEA-1.1 blood group was established for both sexes and the different breeds (mongrels included). No statically difference between them was found. Additionally to the information on canine blood groups, the present work offers information, for the first time in Costa Rica, on the reference ranges for hematological values, estimated by manual counts.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

1.1.1. Historia de la medicina transfusional

A mediados del siglo XVII se empezaron a realizar experimentos concernientes a transfusiones de sangre completa, transfundiendo sangre directamente de la arteria de un canino a la yugular de otro. Estas transfusiones fueron exitosas y los conocimientos obtenidos se aplicaron a la medicina humana, llegándose a transfundir personas con sangre de oveja o ternero con el fin de curar un “comportamiento maniaco” (Harrell & Kristensen, 1995).

En el siglo XIX las transfusiones pasaron a ser un evento común en mujeres con hemorragias posparto, aunque eran de alto riesgo. En el siglo XX se conocieron los anticoagulantes y preservantes para productos sanguíneos; se describieron los grupos sanguíneos en humanos y se desarrollaron las pruebas de compatibilidad, haciendo esta práctica más segura y conocida. Con la II Guerra Mundial, se promovió el desarrollo de los bancos de sangre por parte de la Cruz Roja (Hosgood, 1990; Lanevski & Wardrop, 2001).

En el campo de la medicina veterinaria, el estudio de los grupos sanguíneos en caninos se inició en el siglo XVII por Richard Lower, quien realizó la primera transfusión de canino a canino y efectuó también transfusiones heterólogas, concluyendo que “lo similar transfundía a lo similar”. En 1961, Swisher, Young y Trabold realizaron investigaciones acerca de la importancia de los antígenos eritrocitarios caninos en las transfusiones y en las enfermedades, aportando información que continúa siendo de gran relevancia (Hale, 1995).

1.1.2. Grupos sanguíneos

Los grupos sanguíneos están definidos por antígenos específicos (glicolípidos y glicoproteínas) que se encuentran en la superficie de la membrana celular de los glóbulos rojos. La caracterización de estos grupos sanguíneos en caninos se ha hecho con un interés similar a la especie humana en cuanto a prevenir problemas asociados con la transfusión sanguínea (Bull, 1992; Rejas López et al., 1997).

Existen dos tipos de anticuerpos (Acs) para los antígenos (Ags) de los grupos sanguíneos; los Acs naturales y los Acs adquiridos. Los naturales se presentan en la mayoría de las especies, su expresión es controlada por genes, se heredan de manera ordinaria y su importancia patológica es variable. Los adquiridos se producen luego de la exposición al Ag de un grupo sanguíneo incompatible. Los Acs que participan en los trastornos postransfusión pueden causar aglutinación y/o hemólisis de los glóbulos rojos (Cornell University, [s.f.]; Haldane et al., 2004; Hughes, 2006).

1.1.3. Sistema de antígeno eritrocitario canino (DEA)

Han sido 8 los grupos sanguíneos más estudiados en caninos y se les refiere por la abreviatura DEA (de su nombre en inglés antígeno eritrocitario canino), seguida por un número, desde DEA-1 hasta DEA-8 (Giger et al., 2005) (Cuadro 1). Estos antígenos se heredan de manera independiente, por medio de las leyes de dominancia mendelianas. La mayoría de estos grupos tienen 2 alelos, lo cual significa que pueden ser positivos o negativos para este tipo de sangre con excepción del DEA-1 (Andrews et al., 1992; Giger et al., 1995).

Cuadro 1. Estándares internacionales de clasificación, ocurrencia e importancia de los antígenos eritrocitarios caninos (Hale, 1995).

Grupo DEA	Antigua clasificación	Incidencia poblacional	Presencia de ACs naturales	Importancia transfusional
1.1	A ₁	42%	No	Reacción hemolítica aguda
1.2	A ₂	20%	No	Reacción hemolítica aguda
3	B	6%	Si	Remoción de células retardada, no hemólisis
4	C	98%	No	Ninguna
5	D	23%	Si	Remoción de células retardada, no hemólisis
6	F	98%	No	Desconocida
7	Tr	45%	Si	Remoción de células retardada, no hemólisis
8	He	40%	No	Desconocida

1.1.3.1. Grupo DEA-1

El sistema DEA-1 está definido por múltiples alelos. Estos alelos incluyen los antígenos 1.1, 1.2, 1.3 y el negativo (Cuadro 2). Un perro puede tener solamente uno de estos cuatro fenotipos. Los perros 1.1 y 1.2 positivos han sido estudiados por su importancia transfusional y no se han encontrado Acs naturales para estos alelos, por lo que se considera que no existen reacciones en la primera transfusión (Haldane et al., 2004; Hughes, 2006).

Sin embargo, si un perro DEA-1 negativo es expuesto a glóbulos rojos (GRs) 1.1 positivos, 4 a 14 días después de la transfusión, se produce una fuerte hemólisis que provoca una hemólisis extravascular (Authement et al., 1987; Rejas López et al., 1997; Gračner et al., 2007). En la segunda exposición, se presenta una reacción transfusional hemolítica aguda, que causa la remoción de las células transfundidas en menos de 12 horas y que produce

hemoglobinuria e hiperbilirrubinemia (Ejima et al., 1986). Además, las hembras que reciben una transfusión en la cual no se realizó prueba de compatibilidad ni tipificación sanguínea, tienen en un 25% de posibilidad de desarrollar Acs contra DEA-1.1 en la preñez. Estos Acs pueden ser transmitidos a sus cachorros a través del calostro, ocasionándoles, a aquellos que heredan el Ag DEA-1.1 de su padre, anemia hemolítica (isoeritrólisis neonatal) e inclusive la muerte (Young et al., 1952; Novais et al., 1999).

Otro evento de relevancia clínica a considerar es cuando a un perro DEA-1 negativo previamente sensibilizado con GRs 1.2 positivo, se le administran GRs 1.2 positivo, 12-24 horas después de la transfusión, sufre una remoción y pérdida permanente de los glóbulos rojos administrados. Alternativamente si un perro DEA-1.2 positivo se sensibiliza con GRs 1.1 positivo, este perro produce un potente Ac anti-DEA-1.1 y cuando se administran GRs 1.1 positivo por segunda vez, presenta una reacción transfusional hemolítica aguda (Rejas López et al., 1997; Day et al., 2000).

El grupo DEA-1.3 no se han evaluado aún por su importancia transfusional debido a que no existe suero para su tipificación (Hale, 1995).

Cuadro 2. Descripción de los genotipos y fenotipos para el sistema del grupo sanguíneo del antígeno eritrocitario canino 1 (Hale, 1995).

Fenotipo	Posibles genotipos
1.1	1.1/1.1, 1.1/1.2, 1.1/1.3, 1.1/-
1.2	1.2/1.2, 1.2/1.3, 1.2/-
1.3	1.3/1.3/, 1.3/-
Negativo	-/-

1.1.3.2. Grupo DEA-4

Es un Ag de alta incidencia en la población canina, pues más de un 98% de los perros lo expresan. No existen Acs naturales para DEA-4 y los perros DEA-4 negativos sensibilizados, no muestran pérdida de GRs ni hemólisis después de ser transfundidos con células DEA 4 positivas. (Cornell University, [s.f.]; Hale, 1995; Day et al., 2000).

1.1.3.3. Grupo DEA-3, DEA-5 y DEA-7

Aunque los perros DEA-3, 5 y 7 negativos poseen Acs naturales contra los GRs DEA-3, 5 y 7 positivos, estos grupos sanguíneos no provocan una reacción hemolítica severa. Cuando se transfunde sangre incompatible, 3 a 5 días después de la transfusión, se da hemólisis, lo que resulta en una eliminación de los GRs más rápida que cuando se transfunde sangre compatible (en 21 días). Esto se conoce como una reacción transfusional hemolítica retardada y es importante si la habilidad de regeneración del receptor está comprometida, pero se ha reportado una baja incidencia de estos grupos en la población (Cornell University, [s.f.]; Hale, 1995; Day et al., 2000).

1.1.3.4. Otros grupos

Los estándares internacionales incluyen otros 2 antígenos, DEA-6 y DEA-8. La información sugiere que el DEA-6 posee una alta incidencia y que el DEA-8 una incidencia media. Se ha reportado que ninguno presenta Acs naturales, pero aun se desconoce su importancia transfusional debido a la falta de estudios (Hale, 1995; Day et al., 2000).

1.1.4. Tipificación del DEA

La tipificación sanguínea se basa en la reacción de hemoaglutinación, la cual se presenta cuando Acs policlonales o monoclonales se unen a un Ag de superficie de los GRs.

La prueba es positiva si hay hemoaglutinación y por ende el perro se considera positivo para determinado grupo sanguíneo (Giger, 2005).

Uno de los reactivos disponibles comercialmente para tipificar los eritrocitos DEA-1.1, 1.2, 3, 4, 5 y 7 son los antisueros policlonales del laboratorio Midwest Animal Blood Services®, generados mediante el proceso de aloinmunización. También se encuentran en el mercado, las tarjetas de tipificación Rapid Vet-H de los Laboratorios DMS, las cuales utilizan un Ac murino monoclonal DEA-1.1 (Andrews et al., 1992; Lanevski & Wardrop, 2001).

Más recientemente se ha adaptado una prueba en gel a partir de las modernas técnicas de tipificación sanguínea humana. En esta, la aglutinación se realiza en microcolumnas que contienen una matriz de gel con un Ac monoclonal DEA-1.1. También existe la prueba en tubo, que se basa en una novedosa clasificación propuesta por investigadores japoneses, la cual utiliza 4 diferentes Acs monoclonales A, B, D y E, los cuales no se han correlacionado aún con el sistema DEA (Giger et al., 2005) (Anexo 1).

En algunos laboratorios se están haciendo intentos para lograr una definición bioquímica y molecular de los antígenos eritrocitarios caninos, lo que va a permitir que la tipificación de los GRs caninos o su ADN sea más rápida y uniforme (Giger et al., 2005).

1.1.5. Selección de donadores

En caso de que la tipificación no esté disponible, a los receptores se les debe realizar la prueba de compatibilidad cruzada (PCC) mayor con un donador “universal” para evitar la sensibilización con eritrocitos incompatibles. Se le llama donador universal a un perro que expresa solamente el antígeno DEA-4. Muchos autores sugieren, además, evitar la exposición a DEA-1.1 dado que los Acs anti-DEA-1.1 son las únicas hemolisinas conocidas (Kerl & Hohenhaus, 1993). Por lo tanto al evitar la interacción entre Ag-Ac DEA 1.1, se evita una

reacción transfusional hemolítica aguda. Si la meta de las transfusiones de GRs es proveer el máximo número de GRs al receptor con la mínima pérdida de células a través de las vías inmunomediadas, entonces se debe evitar también la exposición a DEA 1.2, 3, 5 y 7 (Hale, 1995) (Figura 1).

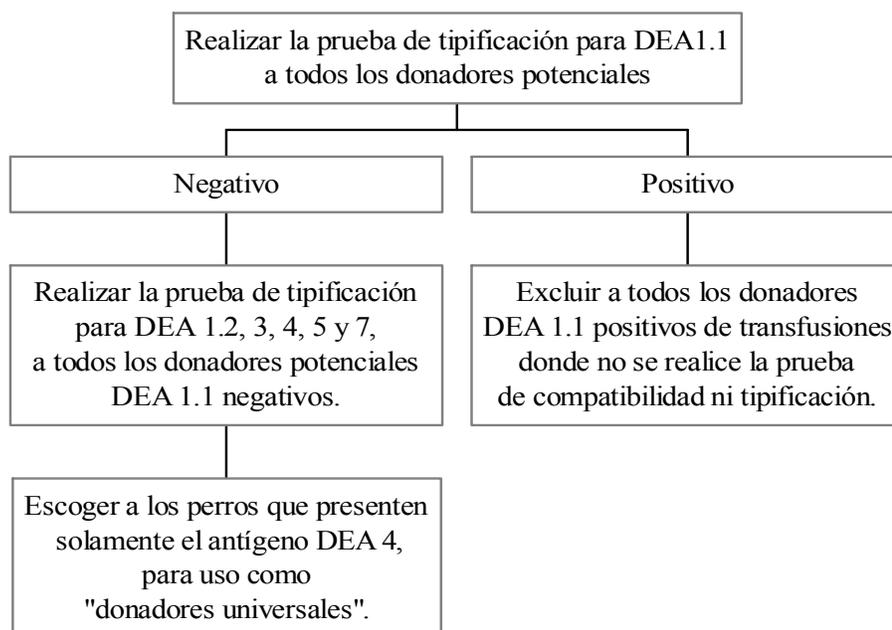


Figura 1. Recomendaciones para minimizar el costo de identificar donadores universales por medio de la tipificación del DEA (Hale, 1995).

El donador debe cumplir con otros requisitos, como: pesar más de 30 kg, tener un hematocrito de al menos 40%, buen temperamento, buena condición física, no tener historia previa de transfusión o preñez, llevar el registro de vacunaciones y desparasitaciones al día y realizarle un examen físico (Howard et al., 1992; Lanevski & Wardrop, 2001). Además, para mantener donadores adecuados, se aconseja realizarles exámenes de flotación fecal cada 6 meses; un hemograma completo; urianálisis; química sanguínea y evaluación general para posibles enfermedades infecciosas (según la epidemiología de la zona) una vez al año y

terapia preventiva contra el gusano del corazón en lugares donde sea necesario (Smith, 1991; Freeman et al., 1994, Day et al., 2000).

1.1.6. Reacciones transfusionales

En la literatura veterinaria existen pocos reportes acerca de reacciones transfusionales en caninos, por lo que la incidencia e importancia clínica no se conoce bien. Se ha publicado un caso clínico en el cual un perro sufrió una reacción transfusional hemolítica aguda (RTHA) debido a una incompatibilidad con el donador DEA 1.1 (Giger et al., 1995; Harrell & Kristensen, 1995).

Las reacciones transfusionales generalmente se clasifican en inmunológica o no inmunológica (basado en la patogénesis) y se subdividen en aguda que ocurre en la primera o segunda hora de la transfusión o retardada que ocurre días, meses o años después y su severidad puede ir desde leve (fiebre) hasta severa (muerte) (Prittie, 2003; Bracker, 2005) (Anexo 2).

La hemólisis inmunomediada ocurre debido a la interacción entre los Ags eritrocitarios y los Acs circulantes del paciente y provoca la disminución de la sobrevivencia de los GRs transfundidos. Este tipo de reacción se clasifica como hipersensibilidad tipo II y puede presentarse de forma intravascular o extravascular (Smith, 1991; Brooks, 2006).

1.1.7. Reacción transfusional hemolítica aguda

Esta reacción es la más patogénica de todas, pero puede ser prevenida. Provoca hemólisis intravascular y debido a esta se observa hemoglobinuria, vasoconstricción, isquemia renal, coagulación intravascular diseminada (CID) e incluso shock, debido a dos mecanismos: la activación del sistema hemostático y la liberación de sustancias vasoactivas (Prittie, 2003; Brooks, 2006).

Los signos clínicos reportados en caninos son: fiebre, taquicardia o bradicardia, hipotensión, disnea, cianosis, salivación excesiva, lagrimeo, micción, defecación, vómito, opistótono, colapso, arresto cardíaco, hemoglobinemia y hemoglobinuria (Smith, 1991; Bracker, 2005)

La severidad de una RTHA depende de varios factores. El tipo de Ac involucrado, inmunoglobulina G (IgG) o inmunoglobulina M (IgM), la magnitud de la fijación del complemento y la presencia de un sitio de unión para las células fagocíticas, así como del volumen administrado (Harrell & Kristensen, 1995).

Los Ac IgM son muy eficientes en la fijación del complemento. Una sola molécula de Ac IgM es capaz de fijarse a la fracción 1 del complemento (C1). Al activarse la cascada del complemento hasta las etapas terminales C5-C9, se da la penetración de la membrana de los GRs, lisis y liberación de las anafilotoxinas; lo que trae como consecuencia una hemólisis intravascular aguda que puede ser extremadamente severa (Abbas et al., 2000; Tizard, 2002).

En cambio, los Ac IgG deben estar presentes en concentraciones altas para lograr la activación del sistema de complemento y cuando logran la activación termina en la fracción 3 (C3). En este nivel, los Acs cubren los GRs provocando una hemólisis extravascular, que puede ser aguda o retardada y generalmente leve. Por otro lado, cuando estos Acs IgG cubren la superficie de los GRs y son incapaces de activar el complemento, provocan la destrucción de estos por medio de células fagocíticas, que unen sus receptores de Fc con los GRs opsonizados y conllevan a una hemólisis extravascular que usualmente es retardada (Abbas et al., 2000; Tizard, 2002).

1.1.8. Hematología

La hematología es una rama de las ciencias médicas que comprende el estudio de la sangre y de los tejidos donde se producen o almacenan. Analizar la sangre es un procedimiento común y la vez muy útil, el constante contacto de la sangre con todas las células del cuerpo, la función de suplir nutrientes, oxígeno y de ser la vía de deshecho de diversos metabolitos, además de estar expuesta a los procesos metabólicos de esas células, le confiere el papel de ser el medio en donde se reflejan gran cantidad de alteraciones del organismo. La sangre también es esencial en el balance hídrico y electrolítico, en el control de la temperatura y en la función del sistema inmune. Por todos estos motivos, una muestra de sangre es representativa de lo que ocurre en el organismo y la obtención es sumamente fácil en comparación con la obtención de una muestra de un tejido más profundo (Voight, 2000).

La hematología se utiliza principalmente para revisar la salud general del animal, así como su habilidad para transportar oxígeno y defenderse contra agentes infecciosos. También la hematología puede ayudar a establecer un diagnóstico, evaluar la severidad de una enfermedad y la habilidad del animal para responder ante dicha alteración, determinar el pronóstico de un padecimiento e indicar el curso de un tratamiento. Es importante recordar que la interpretación debe realizarse en conjunto con la historia clínica, el examen físico y otros hallazgos de laboratorio (Bull, 1999; Voight, 2000).

El hemograma brinda información sobre el número de eritrocitos y leucocitos circulantes y la morfología de dichas células. Generalmente, incluye el recuento total de GRs, el hematocrito (Htc), la concentración de hemoglobina (Hb), los índices hemáticos, el conteo de leucocitos y la fórmula leucocitaria. La fórmula leucocitaria estándar diferencia los leucocitos en cinco variedades (neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos)

(Sodikoff, 2002; Meneses et al., 1993). Algunos exámenes adicionales al hemograma y de uso rutinario son el conteo de plaquetas, reticulocitos y la observación de hemoparásitos.

1.2. Justificación

En medicina veterinaria, en un 80% de las ocasiones en las que se utilizan las transfusiones sanguíneas, es como medida para salvar la vida de los pacientes (Howard et al., 1992; Wardrop et al., 1998). A pesar de los recientes avances en esta área, en Costa Rica la mayoría de las transfusiones aún se realizan con sangre no tipificada y sin utilizar la prueba de compatibilidad cruzada (Meneses, 2007) mayor o menor, de manera que en algunas ocasiones más bien se agrava la condición del paciente.

La PCC (Anexo 3) no siempre es útil, porque su función es la de valorar compatibilidades o incompatibilidades serológicas entre donador y receptor. Cuando esta prueba se lleva a cabo entre dos perros que nunca han recibido una transfusión, el resultado será siempre compatible y puede ser malinterpretado por el clínico, llevando a cabo una transfusión incompatible y sensibilizando al receptor. El único método capaz de lograr la detección de estos Ags, antes de que el paciente sea sensibilizado, es la tipificación sanguínea (Lanevski & Wardrop, 2001), la cual aún no se realiza de manera rutinaria en nuestro país.

En lo que a los aloanticuerpos naturales caninos respecta, es necesario que haya una familiarización de los médicos veterinarios con ellos, ya que suelen generarles confusión en diversas ocasiones. Muchos confunden la formación de rouleaux con una reacción de aglutinación o asumen que las reacciones post-transfusionales febriles, alérgicas o no hemolíticas son el resultado de una incompatibilidad de grupos sanguíneos, cuando en realidad puede deberse a otro tipo de incompatibilidades (Giger et al., 1995) (Anexo 2).

Las transfusiones con sangre completa son las de mayor aplicación en medicina veterinaria, por ser prácticas y económicas; sin embargo esta práctica ya no se considera aceptable con respecto a los conocimientos médicos y científicos básicos (Novais et al., 1999). La terapia con componentes sanguíneos, celulares o plasmáticos debería ser utilizada para conservar mejor los productos y brindarle una terapia específica y segura a cada paciente. Para lograr un uso adecuado de esta terapia son requeridos los conocimientos acerca de grupos sanguíneos y prevalencia de antígenos (Smith, 1991; Stone et al., 1992; Abrams-Ogg et al., 1993; Rejas-López et al., 1997).

La terapia con componentes sanguíneos es de gran utilidad en especialidades como la medicina de emergencia, cuidados intensivos y oncología, donde es muy importante minimizar el riesgo de las reacciones adversas, como incompatibilidades serológicas, para obtener el máximo provecho de la transfusión (Battaglia, 2001).

Además, la tipificación sanguínea puede ayudar a determinar el parentesco y la pureza de raza; así como, rastrear algunas enfermedades hereditarias (Smith, 1991; Miller, et al.; 2004). A su vez, puede determinar asociaciones entre enfermedades y grupos sanguíneos, como en el caso de la isoeritrolisis neonatal, la anemia hemolítica inmunomediada y algunas enfermedades mieloproliferativas (Harrell & Kristensen, 1995).

Finalmente, la medicina de trasplantes de órganos y tejidos se encuentra muy ligada a la medicina de transfusión. En los trasplantes es necesario proveer al receptor de un tejido lo más similar antigénicamente al suyo, por lo que se requiere de la caracterización de los Ags de GRs y otros sistemas de histocompatibilidad de otros tejidos, para que el sistema inmune del receptor no sea estimulado (Bull, 1982).

Con respecto a la obtención de valores referenciales, en Costa Rica son escasos los reportes de datos específicos de parámetros hematológicos de caninos; con la excepción de los datos reportados por León (2000), específicos para la raza pastor alemán. Los datos referenciales son necesarios para la interpretación correcta de los resultados y lo ideal es que cada laboratorio obtenga los valores de acuerdo a las técnicas e instrumentos analíticos que utilicen (Turnwald et al., 2000).

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Determinar la prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 y obtener valores hematológicos de caninos (*Canis familiaris*) en la región central de Costa Rica.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el riesgo potencial de sensibilización, así como el riesgo potencial de una reacción hemolítica transfusional, en caninos de Costa Rica.
- Evaluar la distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 en perros de raza definida y en perros sin raza definida, así como en hembras y machos, muestreados en nuestro país y comparar dicha distribución.
- Establecer los rangos referenciales para las siguientes variables: Htc, Hb, concentración de hemoglobina corpuscular media, conteo de leucocitos, diferencial de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos y conteo de plaquetas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Selección de la población

Para la investigación se trabajó con caninos provenientes del Valle Central, hembras y machos, clínicamente sanos, con edades a partir de los 6 meses y hasta los 10 años, tanto de raza pura como sin raza definida (SRD). A los propietarios se les brindó información concerniente al tema por medio de un volante informativo motivándolos para que su mascota participara en el estudio.

Los perros se seleccionaron de varias fuentes: criaderos, mascotas en clínicas veterinarias, mascotas de estudiantes de medicina veterinaria y de algunos barrios al azar. Cada animal debía cumplir con los siguientes requisitos: programa de vacunación y desparasitación completo, historial clínico (Day et al., 2000), además se le debía realizar un examen físico para valorar su estado de salud (University of California Davis, [s.f.]; Washington State University, 2004) y tomar una muestra de sangre representativa.

No se incluyeron animales que estuvieran bajo algún tratamiento médico, que padecieran de alguna enfermedad o hembras que estuvieran en estado de preñez.

2.2. Tamaño de la muestra

El número total fue de 115 animales y resultó de la aplicación de las fórmulas para calcular el tamaño de muestra en función de la población objetivo, asumiendo un 7,5% de error admisible, 90% de confianza y 55% de prevalencia (Cuadro 3).

Cuadro 3. Fórmula para calcular el tamaño de la muestra en función de la población objetivo.

$$n_0 = \frac{z^2 * p * q}{e^2}$$

$$n = \frac{1}{\frac{1}{n_0} + \frac{1}{N}}$$

En donde:

n_0 = tamaño de la muestra inicial

z^2 = nivel de seguridad de nuestra afirmación y se determina con el valor de confianza.

p = probabilidad para calcular la varianza

q = probabilidad (1 – p) para calcular la varianza

e^2 = error admisible

n = tamaño de la muestra

N = tamaño de la muestra final

2.3. Capacitación técnica

Con la finalidad de lograr una mejor capacitación en la interpretación de resultados de tipificación sanguínea por el método en tubo, se realizaron visitas programadas al Banco de Sangre del Hospital San Vicente de Paúl y al Banco de Sangre del Hospital México.

2.4. Preparación de material informativo y registros

Se diseñaron volantes informativos para entregar a los dueños de los animales, explicando la importancia de este estudio; beneficios al participar y números telefónicos, medio por el cual se estableció la fecha de sangrado.

También se confeccionaron carnés para que el animal contara con una identificación respecto al grupo sanguíneo DEA-1.1 y hojas de registro donde se archivaron los datos de la historia clínica, el examen físico y los resultados obtenidos de los análisis sanguíneos.

2.5. Toma de la muestra

Las muestras de sangre fueron tomadas de la vena yugular, con previa desinfección del sitio de sangrado con torundas de alcohol, utilizando el sistema al vacío (vacutainer) con el anticoagulante ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), como describe Day et al. (2000). Estas se almacenaron y conservaron a 4°C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Análisis Clínico de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA). Las pruebas hematológicas se realizaron en las 24 horas siguientes a la toma de la muestra y la tipificación sanguínea en un plazo máximo de 2 días pos toma.

2.6. Análisis sanguíneo

2.6.1. Tipificación sanguínea

Los GRs de cada perro se lavaron 3 veces con solución salina buferada con fosfato (PBS), en una proporción 1:9 de GRs:PBS, utilizando tubos de vidrio de borosilicato 10×75mm. Después de los lavados se preparó una suspensión de GRs al 4% en PBS, con el fin de ser analizadas para detectar el antígeno eritrocitario canino 1.1, mediante los anticuerpos policlonales anti DEA-1.1 de Midwest Animal Blood Services©, siguiendo las instrucciones que esta compañía recomienda (Hale, 2007). El procedimiento consistía en rotular 2 tubos de vidrio de borosilicato 10×75mm para cada canino que se fuera a tipificar, uno como DEA-1.1 y el otro como control negativo, para detectar algún caso de autoaglutinación. Se debía agregar 0,1ml del antisuero en el tubo DEA-1.1., 0,1ml de PBS en el tubo de control negativo y 0,1ml de la suspensión de GRs respectiva en ambos tubos. Todas las muestras se incubaron durante 15 minutos a 37°C. Luego se centrifugaron a 1000xg durante 15 segundos y posteriormente se determinó si hubo o no aglutinación. La aglutinación se graduó por su intensidad en 3 grupos: negativo o aglutinación +1 (débil), aglutinación +2 (media) y aglutinación +3 (fuerte). A los

tubos cuyo resultado fue negativo, +1 o +2 se les realizó la prueba de antiglobulina directa, tanto a la muestra como al control negativo, con el reactivo de Coombs de VMRD® (2007) siguiendo las instrucciones que Midwest Animal Blood Services© recomienda para la tipificación sanguínea, con el propósito de detectar eritrocitos cubiertos por anticuerpos. El procedimiento consistía en lavar todos los tubos 3 veces con PBS, aproximadamente 1ml por lavado, descartando el sobrenadante. Al descartar el sobrenadante del tercer lavado se resuspendían los GRs con PBS. A esta suspensión se le agregó 0,1ml del reactivo de Coombs diluido, en una proporción 1:9 de reactivo de Coombs:PBS, se mezcló e incubó durante 15 minutos a 37°C. Posteriormente, se centrifugaron los tubos a 1000xg durante 15 segundos y se determinó si hubo o no aglutinación. Finalmente las muestras positivas a la prueba de antiglobulina directa así como las que anteriormente dieron resultados positivos evidentes (+3) sin necesidad de realizar la prueba de antiglobulina directa, se clasificaron como positivas al antígeno DEA-1.1.

2.6.2. Análisis hematológico

Para cuantificar el Htc, se recurrió al método de microhematocrito, utilizando la microcentrífuga Danmon, IEC. La Hb se midió utilizando el método colorimétrico de la cianometahemoglobina, las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Coleman Junior. La concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) se determinó con la aplicación de la fórmula: $CHCM = Hb(g/dl) \times 100 / Htc$. Los glóbulos blancos (GBs) se cuantificaron en forma manual utilizando la cámara de Neubauer y el cálculo del número de leucocitos por ul o mm^3 se obtuvo empleando la siguiente fórmula: $leucocitos/ul = \# leucos \times 10 \times 20 / 4$. Los frotis sanguíneos se colorearon con la tinción de May Grünwald-Giemsa para la realización del diferencial leucocitario y la observación de la morfología de las células.

El cómputo de plaquetas se realizó por el método indirecto, se contaron el número de plaquetas en 5 diferentes campos y se obtuvo el promedio por un campo, aplicando luego la fórmula: $\text{plaquetas/ul} = \# \text{ plaquetas promedio} \times 367 \times \text{Htc}$ (Meneses et al., 1993; Metzger, 2004a; Metzger, 2004b; Metzger, 2004c).

2.7. Recolección de datos de los análisis sanguíneos

Los resultados obtenidos en las pruebas de tipificación sanguínea y en los análisis hematológicos, se transfirieron a hojas de cálculo del programa Excel en el cual se crearon 2 bases de datos, una llamada prevalencia DEA-1.1 en Costa Rica y otra llamada hemogramas de caninos en Costa Rica. En la primera se recopiló la siguiente información: raza, sexo y prevalencia del antígeno eritrocitario DEA-1.1. En la segunda se incluyeron los siguientes datos: porcentaje de Htc; g/dl de Hb; g/dl de CHCM; conteo de plaquetas $\times 10^5/\text{ul}$; conteo total de leucocitos $\times 10^3/\text{ul}$; conteo diferencial (porcentaje) y valores absolutos $\times 10^3/\text{ul}$ de: bandas, segmentados, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

2.8. Análisis estadístico

La prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 se determinó mediante la distribución de frecuencia (Armitage & Berry, 1997), utilizando el programa Excel para Windows

El cálculo del riesgo potencial de sensibilización de un perro DEA-1.1 negativo en la primera transfusión, se obtuvo multiplicando la frecuencia de DEA-1.1 positivos por la frecuencia de DEA-1.1 negativos. Luego, ese resultado se multiplicó por la frecuencia de DEA-1.1 positivos, para obtener un segundo resultado que representa el riesgo potencial de que ocurra una reacción transfusional hemolítica aguda (Novais et al., 1999).

La distribución de frecuencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 obtenida en el estudio se comparó entre animales de raza no definida y definida, utilizando el t-Test, mediante el

programa Excel para Windows y el resultado se consideró significativo cuando P era ≥ 0.05 (Armitage & Berry, 1997). También se comparó la prevalencia entre hembras y machos por el mismo método.

De los datos de los hemogramas se obtuvieron los valores estadísticos descriptivos (promedio, desviación standard, mínimo, máximo y media) por medio del programa Excel (Graçner et al., 2007).

Posteriormente, se calcularon los rangos de referencia para dichos datos, mediante la determinación de los percentiles 0.975 y 0.025 de cada parámetro (León, 2000).

3. RESULTADOS

Se recolectó un total de 120 muestras de sangre de caninos clínicamente sanos entre enero del 2008 hasta mayo del 2008. Los resultados mostraron que de los 120 caninos analizados mediante los anticuerpos policlonales anti DEA-1.1, un total de 64 eran positivos al grupo sanguíneo DEA-1.1, determinándose una prevalencia de 53.3% de caninos positivos a este grupo sanguíneo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 en caninos de Costa Rica.

	DEA-1.1 negativo	DEA-1.1 positivo	Total
Número de perros	56	64	120
Prevalencia (%)	46.7	53.3	100

Al clasificar las 120 muestras en 3 categorías, según la intensidad de aglutinación del suero policlonal, se determinó que 70 (58.3%) muestras presentaron una aglutinación negativa o aglutinación +1 (débil), 33 (27.5%) mostraron una aglutinación +2 (media) y 17 (14.2%) manifestaron una aglutinación +3 (fuerte). Del total de las 103 muestras (negativas, +1 y +2) que requirieron la prueba de antiglobulina directa, 47 (45.7%) tuvieron un resultado positivo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Clasificación según la intensidad de aglutinación del suero policlonal.

Intensidad de aglutinación	Negativo, +1 Débil	+2 Media	+3 Fuerte	Negativo P. Coombs	Positivo P. Coombs
Número de perros	70	33	17	56	47
Prevalencia (%)	58.3	27.5	14.2	54.3	45.7

A su vez, los resultados se agruparon de acuerdo a la raza de los animales para obtener la prevalencia del grupo DEA-1.1 en diferentes grupos (Cuadro 6 y Figura 2). Es importante aclarar que las razas que presentaban menos de cuatro perros, se agruparon bajo la categoría de otros. Este grupo estaba conformado por las siguientes razas: Bulldog, Doberman, Pinscher, Bouvier des Flandres, Fox Terrier, Pastor Alemán, Husky Siberiano, Rottweiler, Labrador, American Staffordshire, Beagle, Chihuahua, Bull Terrier, Galgo Afgano, Gran Danés, Maltés, Samoyedo, Scottish Terrier, Terranova, Pastor de los Pirineos y Weimaraner.

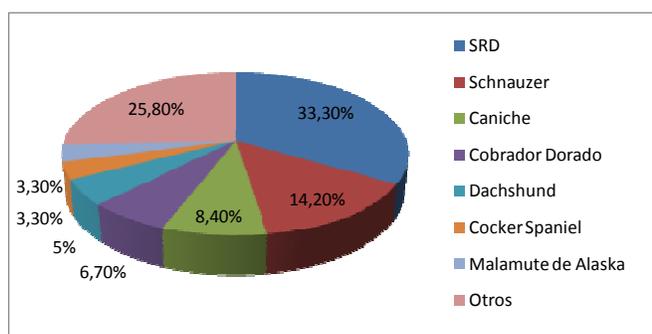


Figura 2. Distribución por raza de la población canina del estudio.

Cuadro 6. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1, por raza.

Grupos por raza	Número de perros	% del total	Número de positivos	% DEA-1.1 positivos
SRD	40	33.3	21	52.5
Schnauzer	17	14.2	11	64.7
Caniche	10	8.4	7	70.0
Cobrador Dorado	8	6.7	5	62.5
Dachshund	6	5.0	6	100.0
Cocker Spaniel	4	3.3	3	75.0
Malamute de Alaska	4	3.3	0	0.0
Otros	31	25.8	11	35.5

La probabilidad calculada de que un perro DEA-1.1 negativo reciba sangre DEA-1.1 positiva en la primera transfusión al azar, es de 24,8% (0.5333×0.4666), siendo este el riesgo potencial de su sensibilización. Si el mismo perro recibe una segunda transfusión al azar, tendrá un 13.2% (0.2488×0.5333) de probabilidad de recibir sangre DEA-1.1 positiva, lo que le provocará una reacción transfusional hemolítica aguda.

De los 120 caninos muestreados, 74 fueron hembras y 46 machos, 40 eran sin raza definida (SRD) y 80 con raza definida. El total de hembras que resultaron positivas al grupo sanguíneo DEA-1.1 fue 39 y el de machos 25; así como el total de animales sin raza definida que se clasificaron como positivos al grupo sanguíneo DEA-1.1 fueron 21 y de raza definida 43. Con los valores respectivos, se determinó la distribución de frecuencias para cada categoría, siendo 52.7% para las hembras, 54.3% para los machos, 52.5% para los animales SRD y 53.7% para aquellos de raza definida (Cuadro 7). Se llevó a cabo la comparación entre ambos sexos mediante el T-Test y el resultado fue 0.89811933. Así mismo, 0,86202003 fue el resultado de la comparación entre razas (no definida y definida). Estadísticamente, se encontró que no existen diferencias entre estos 4 grupos de perros ($P > 0.05$).

Cuadro 7. Frecuencia de distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 positivo, por sexo y raza.

	Número de perros	Número de positivos	% DEA-1.1 positivos
Hembras	74	39	52.7
Machos	46	25	54.3
SRD	40	21	52.5
Raza definida	80	43	53.7

La estadística descriptiva para los valores hematológicos encontrados en el presente estudio: desviación estándar, mínimo, máximo y media; se resume en el cuadro 7. Así mismo, se muestran los rangos referenciales obtenidos para los caninos del Valle Central.

Cuadro 8. Estadística descriptiva y rangos referenciales de los valores hematológicos en caninos de Costa Rica.

Valores hematológicos	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	Media	Rango referencial
Htc (%)	4.4061	39	57	47	39.9-55
Hb (g/dl)	1.6210	11.4	17.7	15.8	11.9-17.7
CHCM (g/dl)	2.1575	31	39	34.5	31-39
CTP* ($\times 10^5$ /ul)	0.6724	1.7	4.4	2.6	1.7-4.2
CTL* ($\times 10^3$ /ul)	2507.9438	5950	15550	9650	5950-14761.2
N. bandas (%)	0.8744	0	3	1	0-3
N. segmentados (%)	8.4465	47	84	63	49-81
Linfocitos (%)	7,0050	10	38	25.5	12-38
Monocitos (%)	1,1331	0	5	2	0-5
Eosinófilos (%)	3,0417	0	11	6	1-11
Basófilos (%)	0,3665	0	1	0	0-1
N. bandas ($\times 10^3$ /ul)	83,1372	0	304	123	0-285
N. segmentados ($\times 10^3$ /ul)	1660,7740	3160	9321	5667	3489,6-9065,5
Linfocitos ($\times 10^3$ /ul)	947,5227	1050	4665	2265	1122,8-4464,2
Monocitos ($\times 10^3$ /ul)	123,7820	0	642	174	0-477,8
Eosinófilos ($\times 10^3$ /ul)	331,5961	0	1260	468	81-1194
Basófilos ($\times 10^3$ /ul)	34,1525	0	121	0	0-115

* Conteo total de plaquetas (CTP) y Conteo total de leucocitos (CTL).

4. DISCUSIÓN

En las últimas décadas, varias investigaciones se han llevado a cabo con el fin de identificar los antígenos de membrana de los glóbulos rojos de los caninos, utilizando diversos métodos de tipificación sanguínea y se ha mencionado, que el DEA-1.1 es un antígeno importante en la medicina transfusional, en lo que a la histocompatibilidad se refiere (Young et al., 1952; Ejima et al., 1986; Andrews et al., 1992; Hale, 1995; Novais et al., 1999; Giger, 2005; Giger et al., 2005; Graçner et al., 2007).

La prevalencia encontrada para el grupo DEA 1.1 en caninos de Costa Rica, fue de un 53.3%, valor similar al descrito por Kohn (1998) y Novais (1999). En el Anexo 4 se muestran los datos que obtuvimos y los datos reportados por otros autores con respecto a la prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1. Las variaciones observadas pueden deberse a diferencias de razas, número de animales y técnicas utilizadas.

El método de tipificación con antisueros policlonales resultó ser elaborado y lento, ya que se deben hacer varios lavados. Además, hubo problemas con la disponibilidad de los reactivos debido a su limitada producción. Sin embargo, entre sus ventajas está que no requiere del uso de una centrifuga especial, como con la prueba en gel y tampoco presenta reacciones cruzadas con otro grupo sanguíneo, como es el caso de la prueba en tarjeta. Los Acs policlonales, presentan variaciones en la intensidad de aglutinación al ser estructuralmente diferentes, lo que repercute en la interpretación de los resultados (Andrews et al., 1992). En su interpretación también influye la experiencia del técnico (Giger et al., 2005), por tal motivo en

lugar de clasificar la intensidad de aglutinación en cinco categorías como se recomienda, se hizo en tres. Así mismo, se pueden presentar falsos negativos, para ello se utilizó la prueba de antiglobulina directa, inclusive se incluyeron los resultados +2 y se procesaron las muestras antes de los cinco días recomendados por la casa comercial. A su vez para evitar los falsos positivos, intentamos utilizar, un frasco de reactivo por semana.

Con respecto a la raza, no se obtuvo diferencia significativa. La Figura 2 muestra que los perros SRD representan un tercio de la población, por lo que la prevalencia en términos generales refleja la frecuencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 en este grupo. En el Cuadro 6 se aprecian otras razas que presentaron una prevalencia alta, como los Dachshund (100%), Cocker Spaniel (75%) y Caniche (70%), semejándose la frecuencia de los Cocker Spaniel reportada por Novais (1999). Por otro lado, también hubo razas con baja prevalencia, como el Malamute de Alaska (0%). Se deben tipificar más animales para poder hablar de la prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1, de cada raza de caninos en Costa Rica.

La frecuencia de distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 en animales de raza y SRD de nuestro estudio, al igual que en hembras y machos, fue muy similar y con ayuda del t-Test se confirmó que la pureza de raza y el sexo, no son factores que predisponen a que un perro sea negativo o positivo al grupo sanguíneo DEA-1.1. El Anexo 5 ilustra la frecuencia de distribución del grupo sanguíneo DEA-1.1 por raza y sexo en caninos de Costa Rica.

Con respecto al riesgo potencial de sensibilización en Costa Rica, los valores mostraron que en una de cada cuatro transfusiones, un perro DEA-1.1 negativo, que recibe sangre DEA-1.1 positiva, se puede inmunizar. Como consecuencia, al poseer anticuerpos anti-DEA-1.1, este mismo animal tiene una probabilidad de uno en siete, de volver a recibir sangre DEA-1.1 positiva y sufrir una RTHA (Novais et al., 1999). Esto indica que las reacciones

hemolíticas extravasculares son frecuentes en nuestras clínicas y que las estamos pasando por alto. A su vez, advierte que debemos empezar a cambiar la forma de practicar la medicina de transfusión, ya que las transfusiones que deberían estar contribuyendo a mejorar la condición del paciente, podrían estar agravándola.

El estudio de los valores referenciales brinda datos que concuerdan con los reportados por otros autores (Anexo 6). Debido a que en la literatura no especifican el método de laboratorio utilizado para obtener los valores referenciales y los que si lo hacen es por medio de métodos automáticos, no se pueden comparar los valores encontrados con los de la literatura (León-Marín, 2000). Además, existen otros factores que pueden influir en los resultados, como el nivel de habilidad y exactitud del técnico, especialmente al utilizar un método manual.

Al comparar los valores observamos que el rango del Htc, la Hb y el CHCM son más altos, lo cual puede deberse a estrés, excitación o deshidratación. La concentración de hemoglobina corpuscular media presenta los valores aumentados debido a un error, u a otros factores como hemólisis de la muestra o lipemia (Voight, 2000), lo cual se presentó en algunos casos. El leucograma en términos generales concuerda con los otros estudios.

Los valores hematológicos obtenidos son representativos de una población de caninos del Valle Central, sin embargo son valores propios del Laboratorio de Análisis Clínicos de la EMV-UNA y debido a la recomendación de que cada laboratorio debe tener sus valores de referencia específicos de acuerdo a la metodología e instrumentos (Turnwald et al., 1999), sirven como valores referenciales para el HEM y otros médicos veterinarios que utilicen el servicio laboratorial, así mismo para aquellos clínicos o laboratorios que utilicen iguales

métodos manuales para realizar hemogramas, ya que no se deben utilizar rangos referenciales de conteos automáticos para interpretar conteos manuales.

5. CONCLUSIONES

- Los resultados obtenidos muestran una prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 para caninos en el Valle Central, de 53.3%.
- La prevalencia encontrada para el grupo sanguíneo DEA-1.1, es superior a la descrita en la literatura de otros países, para perros de distintas razas.
- El riesgo potencial de sensibilización de un perro DEA-1.1 negativo con sangre DEA-1.1 positiva en la primera transfusión al azar, es de 24.8%. La probabilidad de que este mismo perro reciba una segunda transfusión al azar con sangre DEA-1.1 positiva y presente una reacción transfusional hemolítica aguda, es de 13.2%.
- El riesgo potencial de una reacción transfusional, es el mismo si el canino es hembra o macho; igualmente si el perro es de raza definida o SRD.
- Se generaron los primeros valores hematológicos referenciales para caninos de distintas razas de Costa Rica.
- No se pueden comparar estadísticamente los datos obtenidos en el estudio con los datos obtenidos en otras latitudes, porque estos no especifican los métodos de laboratorio utilizados y los que si lo indican, hacen uso de los métodos automáticos.
- Las diferencias generales en el valor del Htc, Hb y CHCM, se pueden asociar a estrés, excitación, deshidratación, hemólisis de la muestra o lipemia.

6. RECOMENDACIONES

A partir del presente estudio y debido a la alta prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 en Costa Rica, se recomienda que se tipifiquen para el grupo sanguíneo DEA-1.1 a todos los donadores como mínimo y de ser posible al receptor también, para así disminuir el riesgo de inmunización y posibles reacciones transfusionales.

Si un perro es DEA-1.1 negativo, se puede utilizar como donador sin que exista algún riesgo de incompatibilidad con el tipo de sangre del receptor, con respecto al grupo sanguíneo DEA-1.1. Por el contrario, si el donador es DEA-1.1 positivo, solo puede transfundirle sangre a un receptor DEA-1.1 positivo, porque de hacerlo a un receptor DEA-1.1 negativo presentará incompatibilidad serológica.

Se recomienda utilizar los antisueros policlonales en los laboratorios en los que se desee brindar un servicio de tipificación sanguínea preciso, pero para el uso en la clínica se recomienda el método por tarjeta para tipificar a los donadores.

El reactivo de Coombs, se puede usar también para detectar destrucción inmunomediada de eritrocitos, la cual ocurre en casos de anemia hemolítica autoinmune, lupus eritematoso sistémico canino y en algunos casos de infecciones y neoplasias.

Se debe realizar siempre la prueba de compatibilidad cruzada mayor (glóbulos rojos del donador con plasma del receptor) antes de cualquier transfusión, principalmente en un perro que haya recibido previamente una transfusión. De esta forma se logra detectar diferentes tipos de Acs en el plasma del receptor, contra los glóbulos rojos del donador.

Para minimizar los riesgos de las transfusiones y aumentar sus beneficios, se recomienda además de hacer una selección adecuada del donador, monitorizar cuidadosamente al paciente durante y después de la transfusión: la temperatura rectal,

frecuencia del pulso, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar y aptitud y chequear también por urticaria y pigmenturia. Así como documentar el valor del hematocrito, la concentración de proteínas plasmáticas, y el color del plasma al inicio y al final de la transfusión (Anexo 7).

Lo ideal sería realizar siempre una terapia específica con los componentes sanguíneos, celulares y plasmáticos que el paciente requiere, evitando así administrar fracciones celulares (leucocitos y plaquetas) y proteicas innecesarias y por consiguiente ayudando a disminuir el número de reacciones transfusionales que se presentan en la clínica.

Se recomienda tener un registro de donadores internos o externos ya tipificados, además, se recomienda mantener un registro también de las transfusiones (Anexo 7).

Con respecto a los valores hematológicos, lo ideal es que cada laboratorio tenga sus propios valores referenciales que sean específicos para el equipo que se utiliza y a su vez sirve como una forma de control para determinar que los procedimientos que se realizan y sus resultados son confiables. Es recomendable unir los datos obtenidos en el estudio de caninos pastor alemán con los del presente estudio, ello permite ampliar la base de datos y establecer rangos más precisos de caninos de diferentes razas.

Se recomienda tener cuidado con la toma de la muestra y su posterior manejo. Se debe evitar la fuerza física y la contaminación, hasta donde sea posible tener la condición de ayuno y en el caso de que la muestra no se pueda procesar inmediatamente, mantenerla a 4°C.

Los resultados de hematología se deben usar en conjunto con la historia, el examen físico y otras pruebas de laboratorio para formar un diagnóstico preciso, ya que por si solos es muy difícil que nos guíen hacia un diagnóstico definitivo.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., A. H., Lichtman & J. S., Pober. 2000. Inmunología celular y molecular. 4ª. ed. Mc Graw Hill, España.
- Abrams-Ogg, A. C. G., S. A., Kruth, R. F., Carter, V. E., Valli, S, Kamel-Reid, I. D., Dubé. 1993. Preparation and transfusion of canine platelet concentrates. *Am. J. Vet. Res.* 54: 635-642.
- Andrews, G. A., P. S., Chavey & J. E., Smith. 1992. Production, characterization, and applications of a murine monoclonal antibody to dog erythrocyte antigen 1.1. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201: 1549-1552.
- Armitage, P. & G, Berry. 1997. Estadística para la investigación biomédica. 3a ed. Harcourt, Madrid.
- Authement, J. M., K. J., Wolfsheimer & S, Catchings. 1987. Canine blood component therapy: Product preparation, storage and administration. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 23: 483-493.
- Battaglia, A. M. 2001. Small animal transfusion medicine. p.57-71. *Small animal emergency and critical care.* Saunders, New York.
- Bracker, K. E. & S. Drellich. 2005. Transfusion reactions. *Compend. Contin. Educ. Proc. Vet.* 27: 500-512.
- Brooks, M. 2006. Complications: transfusion reactions [en línea]. North American Veterinary Conference. International Veterinary Information Service, New York. <http://www.ivis.org> (Consulta: 26 sept. 07).
- Bull, R. W. 1992. Inmunohematología. p. 499-504. In Halliwell, R. *Inmunología clínica veterinaria.* Acribia, Zaragoza.
- Bull, R. W. 1982. Antigens, graft rejections, and transfusions. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181: 1115-1119.
- Bush, B. M. 1999. Interpretación de los análisis de laboratorio para clínicos de pequeños animales. Harcourt, Madrid.

- Cornell University. [s.f.]. Canine blood groups. [en línea]. Cornell University, EE. UU. <http://www.diaglab.vet.cornell.edu/clinpath/modules/coags/typek9.htm> (Consulta: 26 sept. 2007).
- Day, M. J., A. Mackin & J. D. Littlewood. 2000. Manual of canine and feline haematology and transfusion medicine. British Small Animal Veterinary Association, Gloucester.
- Ejima, H., K. Kurokawa & S. Ikemoto. 1986. Phenotype and gene frequencies of red blood cell groups in dogs of various breeds reared in Japan. *Jpn. J. Vet. Sci.* 48:363-368.
- Freeman, M. J., B. M., Kirby, D. L., Panciera, R. A., Henik, E, Rosin & L. J., Sullivan. 1994. Hypotensive shock syndrome associated with acute *Babesia canis* infection in a dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 204: 94- 96.
- Giger, U., C. J., Gelens, M. B., Callan & D. A., Oakley. 1995. An acute hemolytic transfusion reaction caused by dog erythrocyte antigen 1.1 incompatibility in a previously sensitized dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 206: 1358-1361.
- Giger, U. 2005. Current canine and feline blood typing methods and issues [en línea]. American College of Veterinary Pathologists and American Society for Veterinary Clinical Pathology. International Veterinary Information Service, New York. <http://www.ivis.org> (Consulta: 26 sept. 07).
- Giger, U., K. Stieger & H. Palos. 2005. Comparison of various canine blood-typing methods. *Am. J. Vet. Res.* 66: 1386-1392.
- Gračner, D., L. Bedrica, C. Labura, D. Matiêie, G. G., Gračner & M. Samardžija. 2007. Blood groups and haematology in Istrian pointers. *Vet. Arhiv.* 77: 95-102.
- Haldane, S., J. Roberts, S. L., Marks & M. R., Raffe. 2004. Transfusion medicine. *Compend. Contin. Educ. Proc. Vet.* 26: 502-518.
- Hale, A. ahale@midwestabs.com. 2007. Midwest Animal Blood Services DEA typing sop. [en línea]. Mensaje para: N. Pérez. 1 mar. 2007. (Consulta 11 jun. 2007).
- Hale, A. 1995. Canine blood groups and their importance in veterinary transfusión medicine. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 25: 1323-1332.
- Harrell, K. A. & A. T., Kristensen. 1995. Canine transfusion reactions and their management. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 25: 1333-1363.

- Hosgood, G. 1990. Blood transfusion: A historical review. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197: 998-1000.
- Howard, A., B, Callan, M, Sweeney & U, Giger. 1992. Transfusion practices and costs in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 201: 1697-1701.
- Hughes, D. 2006. Transfusion medicine [en línea]. North American Veterinary Conference. International Veterinary Information Service, New York. <http://www.ivis.org> (Consulta: 26 sept. 07).
- Kerl, M. E. & A. E., Hohenhaus. 1993. Packed red blood cell transfusions in dogs: 131 cases (1989). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 202: 1495-1499.
- Lanevski, A. & K. J., Wardrop. 2001. Principles of transfusion medicine in small animals. *Can. Vet. J.* 42: 447-454.
- León-Marín, G. 2000. Valores referenciales hematológicos y bioquímicos de caninos pastor alemán. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, C. R.
- Meneses-Guevara, A. I. 2007. Entrevista con la Dra. Ana Meneses. Profesora del curso de Análisis Clínicos. Lagunilla de Heredia: Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, C. R. 11 jun.
- Meneses-Guevara, A. I., E. Sancho C. & J. E., Villalobos S. 1993. Manual de hematología y química clínica en medicina veterinaria. Fundación UNA, Heredia, C. R.
- Metzger, F. L. & A. Rebar. 2004a. Three minute peripheral blood film evaluation: preparing the film. *Vet. Med.* 99: 34-37.
- Metzger, F. L. & A. Rebar. 2004b. Three minute peripheral blood film evaluation: the erythron and thrombon. *Vet. Med.* 99: 38-44.
- Metzger, F. L. & A. Rebar. 2004c. Three minute peripheral blood film evaluation: the leukon. *Vet. Med.* 99: 45-48.
- Miller, S. A., A. E., Hohenhaus & A. S., Hale. 2004. Case control study of blood type, breed, sex, and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 224: 232-235.
- Novais, A. A., A. E., Santana & L. A., Vicentin. 1999. Prevalence of DEA 1 canine blood group system in dogs (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) reared in Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 36: 0-0.

- Prittie, J. E. 2003. Triggers for use, optimal dosing, and problems associated with red cell transfusions. 33: 1261-1275.
- Rejas-López, J., J. R., González Montaña & A. J., Alonso Diez. 1997. Transfusión sanguínea en pequeños animales. [en línea]. Universidad de León, España. <http://www3.unileon.es/dp/dmv/formco02.htm> (Consulta: 24 mayo 2007).
- Smith, C. A. 1991. Transfusion medicine: The challenge of practical use. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198: 747-752.
- Sodikoff, C. H. 2002. Pruebas diagnósticas y de laboratorio en pequeños animales. 3ª. Ed. Harcourt, España.
- Stone, E., D, Badner & S. M., Cotter. 1992. Trends in transfusion medicine in dogs at a veterinary school clinic: 315 cases (1986-1989). J. Am. Vet. Med. Assoc. 200: 1000-1004.
- Tizard, I. R. 2002. Inmunología veterinaria. 6ª. Ed. Mc Graw Hill, México.
- Turnwald, G. H., H, Tvedten & M. D., Willard. 1999. Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. Saunders, Philadelphia.
- University of California Davis. [s.f.]. Physical examination of dogs and cats. [en línea]. University of California Davis, EE. UU. http://www.ruralareavet.org/PDF/Physical_Examination.pdf (Consulta: 08 ago. 2007).
- Voight, G. L. 2000. Hematology techniques and concepts for veterinary technicians. Iowa State University Press, Iowa.
- VMRD (Veterinary Medical Research and Development). 2007. Certificate of analysis of canine Coombs reagent. VMRD, Washington.
- Wardrop, K. J., R. L., Tucker & E. P., Anderson. 1998. Use of an in vitro biotinylation technique for determination of posttransfusion viability of stored canine packed red blood cells. Am. J. Vet. Res. 59: 397-400.
- Washington State University. 2004. Handling, restraint and physical examination of dogs and cats. [en línea]. Washington State University, EE. UU. http://www.vetmed.wsu.edu/courses_vm568/sam.htm (Consulta: 08 ago. 2007).
- Young, L. E., W. A., O'Brien, S. N., Swisher, G, Miller & C. Y., Yulie. 1952. Blood groups in dogs: Their significance to the veterinarian. Am. J. Vet. Res. 13: 207-213.

8. ANEXOS

Anexo # 1

Cuadro 9. Métodos de tipificación sanguínea en caninos, disponibles en el mercado.

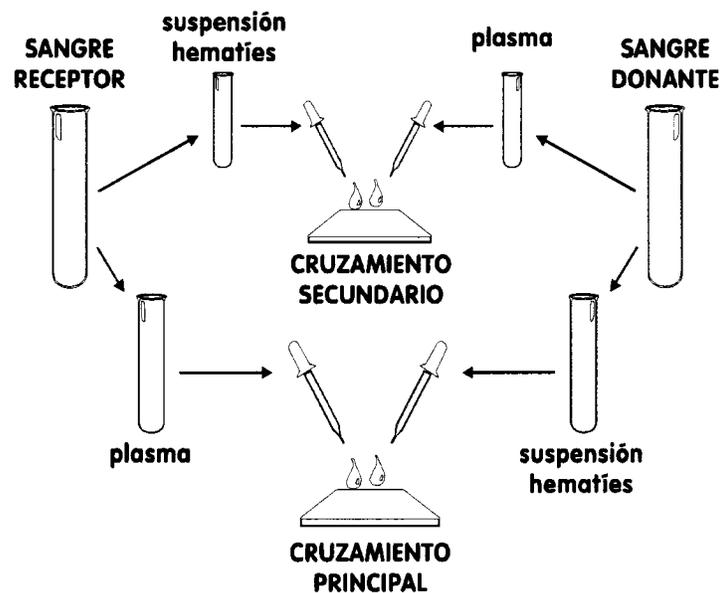
Prueba en tarjeta de DMS	Prueba en gel de Diamed	Prueba de Midwest	Prueba en tubo
Ac monoclonal contra DEA 1.1.	Ac monoclonal contra DEA 1.1.	Antisueros policlonales distintos contra DEA 1.1, 1.2, 3, 4, 5 y 7.	4 Acs monoclonales diferentes contra A, B, D y E.
Sirve para clasificar DEA 1.1 + o -.	Sirve para clasificar DEA 1.1 + o -.	Determina cada uno de esos grupos.	Determina cada uno de esos grupos.
Requiere de sangre anticoagulada (0.1ml).	Requiere de una suspensión de GRs al 4%, pero no requiere de lavados.	Requiere de una suspensión de GRs al 4%, requiere de lavado de GRs.	Requiere de una suspensión de GRs al 4%, requiere de lavado de GRs.
Se da una reacción de aglutinación en 2 min.	Se da una reacción de aglutinación en 1 min.	La aglutinación se lee luego de la centrifugación (centrifuga standard).	La aglutinación se lee luego de la centrifugación (centrifuga standard).
Utiliza control negativo y positivo.	Utiliza las columnas sin Ac como control negativo (para autoaglutinación).	Trabaja con un control negativo, solución salina buferada (para autoaglutinación).	No trabaja con controles.
Trae 3 posillos: uno para cada control y uno para la prueba.	Trae 6 microcolumnas: 3 con Acs y 3 sin Acs.	Para tipificar DEA 1.1 o 1.2 utiliza 0,1 ml y para los otros grupos 0,05 ml del antisuero respectivo.	Para tipificar utiliza 0,05 ml del antisuero respectivo.
Problema: reacción débil de aglutinación con DEA 1.2 positivos, también se dan falsos negativos en animales con Htc < 10%.	Problema: requiere de un período de incubación (10 min) y de una centrifuga especial.	Problema: requiere de un período de incubación (15 min para DEA 1.1 y 1.2 y 30 min para los otros grupos). Para tipificar DEA 1.1 se necesita el reactivo de Coombs.	Problema: requiere de un período de incubación de 5 min. No se ha correlacionado con el sistema DEA.

Anexo # 2

Cuadro 10. Clasificación de las reacciones transfusionales (Brooks, 2006).

	Inmuno-mediado		No inmune	
	Causa	Signo clínico	Causa	Signo clínico
Agudo	Eritrocitos	Hemólisis, fiebre, anafilaxis, apnea, hipotensión, shock	Contaminación	Sepsis, infección
	Plaquetas	Fiebre, vómito	Colecta inadecuada	Hemólisis, vómito
	Leucocitos	Fiebre, vómito	Sobrecarga de volumen	Edema, disnea, vómito
	Proteínas plasmáticas	Urticaria, edema, prurito	Microagregados	Taquicardia, enfermedad tromboembólica
Retardado	Eritrocitos	↓ la vida de los GRs, isoeritrolisis neonatal	Donador infectado	Transmisión de enfermedades
	Plaquetas	Trombocitopenia		

Anexo # 3

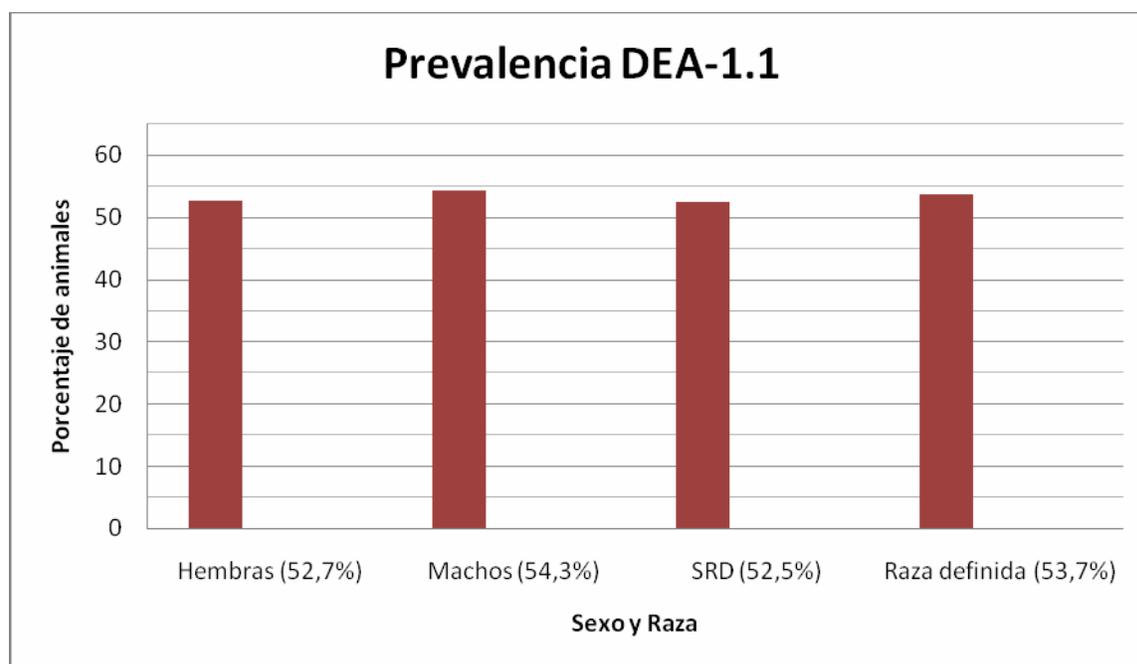
**Figura 3.** Ilustración de la prueba de compatibilidad cruzada.

Anexo # 4

Cuadro 11. Prevalencia del grupo sanguíneo DEA-1.1 según varios autores.

Raza	Prevalencia DEA-1.1	Referencia
SRD	44.6%	Swisher & Young (1961)
Varias	40%	Swisher et al. (1973)
Varias	36%	Suzuki et al. (1975)
Golden Retriever	29%	Wriesendorp et al. (1976)
Beagle	43.4%	Wriesendorp et al. (1976)
SRD	36%	Wriesendorp et al. (1976)
Varias	33%	Ejima et al. (1986)
Varias	52%	Kohn et al. (1998)
Varias	51.3%	Novais et al. (1999)
Pointer Istriano	66.7%	Graçner et al. (2007)
Varias	53.3%	Pérez et al. (2008)

Anexo # 5

**Figura 4.** Distribución de las frecuencias del grupo sanguíneo DEA-1.1 por sexo y raza.

Anexo # 6

Cuadro 12. Rangos referenciales (RR) hematológicos de diferentes autores y del estudio realizado en Costa Rica.

	(RR)a	(RR)b	(RR)c	(RR)d	(RR)e	(RR)f
Htc %	38-55	43.3-59.3	35-55	37-55	37-55	39.9-55
Hb g/dl	11.6-19.6	14.1-20.0	12-18	12-18	12-18	11.9-17.7
CHCM g/dl	30-38	29.9-35.6	34-37	32-36	31-34	31-39
CTP $\times 10^3$ /ul		166-575	150-400	200-500	200-500	170-420
CTL $\times 10^3$ /ul	6.0-16.8	6.0-16.0	6.0-18.0	6.0-17.0	6.0-18.0	5.9-14.7
Bandas $\times 10^3$ /ul	0.0-0.57	0.0-0.3	0.0-0.3	0.0-0.3	0.0-0.33	0.0-0.28
Segm $\times 10^3$ /ul	4.4-11.0	3.23-10.85	3.0-12.0	3.0-11.5	6.6-8.5	3.4-9.0
Linfos $\times 10^3$ /ul	1.2-4.5	0.53-3.44	0.8-3.8	1.0-4.8	1.3-3.3	1.1-4.4
Mono $\times 10^3$ /ul	0.0-0.54	0.0-0.43	0.1-1.8	0.15-1.35	0.33-1.10	0.0-0.47
Eosin $\times 10^3$ /ul	0.0-1.18	0.0-1.82	0.1-1.9	0.10-1.25	0.0-1.1	0.08-1.19
Basof $\times 10^3$ /ul	0	0.0-0.54	0.0-0.2	0	0	0.0-0.11

RRa: León et al., 2000; RRb: Turnwald et al., 1999; RRc: Day et al., 2000; RRd: Bush, 1999; RRe: Voight, 2000; RRf: Pérez et al., 2008.

Anexo # 7

Figura 5. Formulario utilizado para monitorear adecuadamente la transfusión sanguínea en el Hospital de Aprendizaje Veterinario en North Carolina State University.

Información del paciente:

Nombre _____ Peso _____
 Edad _____ Raza _____
 Sexo _____ Procedencia _____
 Fecha: _____ Hora: _____

Médico: _____
 Estudiante: _____

Lista de problemas: 1) _____ 2) _____
 3) _____ 4) _____

Transfusiones previas: si _____ no _____ cuando _____
 Preñeces previas: si _____ no _____

Razón de la transfusión: _____
 Componente sanguíneo necesario: Sangre completa (SC)
 Concentrado de glóbulos rojos (CGR)
 Plasma fresco congelado (PFC)

Grupo sanguíneo: _____
 Vómito antes de la transfusión: si _____ no _____

Prueba de compatibilidad cruzada: donadores _____
 Resultados: compatible? _____

Donador utilizado: _____
 Premedicación y dosis: _____

Monitoreo durante la transfusión:

	T	FP	FR	TLLC	A	HTC	PP
pre							
15 min							
30 min							
1 hora							
1 hora pos							
12 horas pos							
24 horas pos							

Hora de inicio: _____ Hora finalizado: _____
 Reacción transfusional: _____