



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

PAULO RICARDO FIRMINO

**AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA  
ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS**

MOSSORÓ-RN

2018

PAULO RICARDO FIRMINO

**AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA  
ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Ciência Animal do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal da  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto  
Júnior - UFERSA

MOSSORÓ-RN

2018

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

F525a Firmino, Paulo Ricardo.  
Avaliação in vitro e in vivo da compatibilidade  
sanguínea entre muare, equinos e asininos / Paulo  
Ricardo Firmino. - 2018.  
41 f. : il.

Orientador: Raimundo Alves Barrêto Júnior.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ciência Animal, 2018.

1. Transfusão. 2. Reação Cruzada. 3.  
Agglutinação. 4. Xenotransfusão. I. Barrêto Júnior,  
Raimundo Alves, orient. II. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

PAULO RICARDO FIRMINO

**AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA  
ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS**

Dissertação apresentada ao Mestrado em  
Ciência Animal do Programa de Pós-  
Graduação em Ciência Animal da  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido  
como requisito para obtenção do título de  
Mestre em Ciência Animal.

Defendida em: 28 / fevereiro / 2018.

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Raimundo Alves Barrêto Júnior (UFERSA)  
Presidente



Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Valéria Veras de Paula (UFERSA)  
Membro Examinador



Prof. Dr. Wirtton Peixoto Costa (UFERSA)  
Membro Examinador

*À minha família, em especial aos meus pais, José Ricardo Firmino e Maria Perpétua da Silva Firmino, pelo apoio, incentivo, paciência, dedicação e amor. Vocês são meus exemplos de força, fé e coragem.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, origem e fim de tudo, por me escolher e capacitar para vencer mais essa etapa. Ele que me guia e me livra de todas as ciladas, me dá força e ânimo, e com quem quero estar em todos os momentos de minha vida. A Ele toda honra e glória!

Ao meu orientador, Raimundo Alves Barrêto Júnior, por mais uma oportunidade, por toda a confiança e por todo incentivo. Por disponibilizar a estrutura de equipamentos e credibilidade para que eu pudesse realizar meu trabalho, obrigado!

À professora Valéria Veras de Paula, por sempre estar disponível a ajudar e colaborar com o meu projeto desde o início, disponibilizando equipamentos e estrutura sempre que solicitada, além de contribuir com sua boa vontade e participação em minhas bancas, obrigado!

A todos do LABMIV que ajudaram diretamente no experimento: Jerson, Jocelho, Juscélio, Estela, Aluísio e Feitosa, sem os quais seria impossível realizar esse trabalho, obrigado a cada um de vocês.

Ao professor Humberto Minervino, que realizou a estatística de todo o meu experimento. Muito obrigado pelo apoio e por ter sido sempre prestativo em atender-me.

Às amigas Nathália Bessa e Gláucia Carlos, por ajudarem em várias etapas do projeto, sem as quais não seria possível concluí-lo. Muito obrigado.

Ao amigo Dr. André Regis, por fornecer seu tempo e meios para que pudessem ser realizadas algumas análises do projeto de forma sempre solícita.

Aos membros da banca, por aceitarem participar da banca examinadora e pela grande colaboração no aperfeiçoamento do trabalho.

À CAPES pelo apoio financeiro.

À minha esposa, Amara Gyane Alves de Lima, por me acompanhar sempre e estar comigo em todos os momentos, por acreditar em mim e ajudar a trilhar esse caminho.

## **AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS**

FIMINO, Paulo Ricardo. **Avaliação in vitro e in vivo da compatibilidade sanguínea entre muares, equinos e asininos**. 2018. 41f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN. 2018.

**Resumo** – Os muares são animais híbridos resultado do acasalamento entre as espécies equina (*Equus caballus*) e asinina (*Equus asinus*). Assim como qualquer outro equídeo utilizado no trabalho doméstico e para esportes, os muares estão sujeitos a acidentes, traumas e doenças que provocam perdas sanguíneas. Na literatura sobre transfusão em grandes animais não existe nenhum trabalho que aborde a compatibilidade sanguínea ou a transfusão na espécie muar, sendo uma incógnita a possibilidade de transfusão heteróloga para esta espécie. No presente trabalho avaliou-se a compatibilidade sanguínea entre receptores muares e doadores das espécies equina, asinina e muar através de reações cruzadas de compatibilidade e avaliação transfusional. Na primeira fase foi investigada a compatibilidade in vitro através de testes de reação cruzada, maior e menor, onde 12 muares receptores foram testados com cinco exemplares de cada espécie. A segunda fase consistiu na avaliação da compatibilidade in vivo através de transfusão de sangue homólogo e heterólogo para espécie muar, onde nove muares foram divididos em 3 grupos, e cada grupo recebeu sangue de uma das três espécies. Dados das reações cruzadas foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Qui-Quadrado de Pearson, e das transfusões por análise de variância de duas vias, seguido dos testes de Tukey e de Bonferoni para avaliar diferenças entre grupos e os tempos, a 5% de significância, respectivamente. Observou-se 76% de compatibilidade na reação maior para asininos, 51,7% para equinos e 71,7% para muares, com escores médios de aglutinação de 0,42, 1,20 e 0,60, respectivamente. Já na reação menor foi observada compatibilidade de 18,3% para asininos, 45% para equinos e 73,3% para os muares, com escores médios de aglutinação de 2,20, 1,17 e 0,47, respectivamente. Dois animais apresentaram fasciculações compatíveis com RNHF, mas não houve alterações nos parâmetros clínicos, hemogasométricos e bioquímicos que indicassem hemólise em nenhum grupo. Reação positiva no teste maior pós-transfusional do receptor contra seu doador ocorreu em média de 4 dias para equinos, 3,3 para asininos e 5,3 para os muares. A terapia transfusional com sangue heterólogo equino e asinino, em uma primeira transfusão, demonstrou ser compatível e segura, quando realizado o teste de reação cruzada.

**Palavras-chave:** Transfusão, reação cruzada, aglutinação, xenotransfusão.

## **IN VITRO AND IN VIVO EVALUATION OF BLOOD COMPATIBILITY BETWEEN MUARS, EQUINE AND ASININES**

FIMINO, Paulo Ricardo. **In vitro and in vivo evaluation of blood compatibility between mules, horses and asinines**. 2018. 41f. Dissertation (Master's Degree in Animal Science) - Federal Federal University of the Semi-Arid (UFERSA), Mossoró-RN. 2018.

**Abstract** - Mule are hybrid animals resulting from mating between equine species (*Equus caballus*) and asinine (*Equus asinus*). Like any equine used in domestic work and sports, mules are subject to accidents, traumas and diseases that cause blood loss. In the literature on transfusion in large animals there is no work that deals with blood compatibility or transfusion in the muar species, being a question of heterologous transfusion for this species. In the present study, blood compatibility between mule and donor recipients of the equine, asinine and mule species was evaluated through cross-reactivity of compatibility and transfusion evaluation. In the first phase, the in vitro compatibility was investigated through cross-reactivity tests, major and minor, in which 12 receiving mule were tested with five specimens of each species. The second phase consisted of evaluation of in vivo compatibility by homologous and heterologous blood transfusion for muar species, where nine mules were divided into 3 groups, and each group received blood from one of the three species. Data from the cross-reactions were analyzed by Kruskal-Wallis and Pearson's Chi-Square tests, and by two-way analysis of variance, followed by the Tukey and Bonferoni tests to evaluate differences between groups and times, at 5% respectively. There was a 76% compatibility rate in the largest reaction for asinines, 51.7% for horses and 71.7% for mules, with mean agglutination scores of 0.42, 1.20 and 0.60, respectively. In the smallest reaction, 18.3% were observed for asinines, 45% for horses and 73.3% for mules, with mean agglutination scores of 2.20, 1.17 and 0.47, respectively. Two animals showed fasciculations compatible with RNHF, but there were no changes in clinical, hemogasometric and biochemical parameters indicating hemolysis in any group. Positive reaction in the major post-transfusional test of the receptor against its donor occurred on average of 4 days for horses, 3.3 for asininos and 5.3 for mules. Transfusion therapy with heterologous equine and asinine blood in a first transfusion proved to be compatible and safe when cross-reacting.

**Keywords:** Transfusion, crossmatching, agglutination, xenotransfusion.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Representação dos escores médios de aglutinação (X), desvios padrões (S), valores máximos (Max.) e mínimos (Min.) e mediana (Med.) dos testes cruzados de compatibilidade, tendo a espécie muar como receptora..... 31

Tabela 2: Frequência de animais positivos ou negativos no teste compatibilidade cruzada para a reação maior e menor de muares receptores.....32

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BD	Bilirrubina Direta
BI	Bilirrubina Indireta
BT	Bilirrubina Total
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CPDA-1	Citrato, Fosfato, Dextrose e Adenina
CREAT	Creatinina
EDTA	Ácido dietilenodiamino tetra-acético
FC	Frequência Cardíaca
FR	Frequência Respiratória
G	Força Gravitacional
GGT	Gama-glutamyltransferase
h	horas
HCO <sub>3</sub>	Bicarbonato
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IN	Isoeritrólise Neonatal
K <sup>+</sup>	Potássio
kg	Quilograma
LABMIV	Laboratório de Medicina Interna Veterinária
ml/kg	Miligrama por Quilo
ml/kg/h	Miligrama por Quilo por Hora
mmol/L	Milimol por Litro
Na <sup>+</sup>	Sódio
pCO <sub>2</sub>	Pressão Parcial de Dióxido de Carbono
pH	Potencial Hidrogeniônico
pO <sub>2</sub>	Pressão Parcial de oxigênio
PV	Peso Vivo
RNHF	Reação Não Hemolítica Febril
Rpm	Rotações por Minuto
S	Desvio Padrão

SO <sub>2</sub>	Saturação de Oxigênio
TPC	Tempo de Preenchimento Capilar
TR	Temperatura Retal
U/L	Unidade por Litro
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semiárido
URE	Ureia

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca Registrada
%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
$\lambda$	Lambda
$\geq$	Maior que

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>14</b>
1.1	INTRODUÇÃO.....	14
1.2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
1.2.1	<b>Transfusão sanguínea.....</b>	<b>16</b>
1.2.2	<b>Escolha de doadores.....</b>	<b>17</b>
1.2.3	<b>Tipo sanguíneo.....</b>	<b>18</b>
1.2.4	<b>Teste de compatibilidade sanguínea.....</b>	<b>18</b>
1.2.5	<b>Transfusão heteróloga.....</b>	<b>19</b>
1.2.6	<b>Reações transfusionais.....</b>	<b>20</b>
1.2.6.1	Reações imunomediadas.....	21
1.2.6.2	Reações não imunomediadas.....	21
1.3	OBJETIVOS.....	23
<b>1.3.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>23</b>
<b>1.3.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>23</b>
<b>2</b>	<b>CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO IN VITRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS.....</b>	<b>24</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>38</b>

## 1 CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1.1 INTRODUÇÃO

Os muares (*Equus caballus* x *Equus asinus*) são animais resultantes do acasalamento entre espécies equina (*Equus caballus*) e asinina (*Equus asinus*). É denominado híbrido todo animal oriundo de cruzamentos entre espécies diferentes. No caso do cruzamento entre *Equus caballus* ( $2n=64$ ) e *Equus asinus* ( $2n=62$ ), temos como produto a mula e o burro (cruzamento da égua com o jumento), mais produzido que o “Bardoto” e a “Bardota” (cruzamento entre o garanhão equino e a jumenta). Ambos híbridos deste cruzamento apresentam  $2n=63$  cromossomos e são estéreis em quase sua totalidade, pois se tornam incapazes de formar pares de cromossomos homólogos durante gametogênese, levando à morte das células reprodutivas, sendo registradas na literatura algumas exceções estimadas como uma em um milhão (SHORT, 1997; MIRANDA, 2014)

Desde o tempo do império os muares são usados no Brasil para transporte de cargas e pessoas por longas distâncias. Sobre o lombo desses animais muito se produziu, alimentos, mercadorias diversas e, até mesmo, armas e munições foram transportadas por mulas em épocas onde o transporte a motor ou a falta de rodovias dificultava o escoamento da produção (OLIVEIRA; BARROS; ALMEIDA, 2007). A capacidade desses animais em executar trabalho em vários tipos de terrenos e climas, associada ao vigor físico e rusticidade dessa espécie, dão a esses animais grande popularidade no meio rural e urbano (DE OLIVEIRA, 2004). Além da utilização no trabalho diário da fazenda, os muares são utilizados para esporte e lazer assim como acontece com equinos, sendo cavalgadas e provas de andamento e resistência as mais praticadas (RIBEIRO et al., 2004).

Os muares, assim como qualquer outro equídeo utilizado no trabalho doméstico e para esportes, estão sujeitos a acidentes, traumas e doenças que provocam diminuição no volume sanguíneo ou redução do número de células do sangue. Em equinos, hemorragias pós-castração, ruptura de artéria uterina ou ilíaca e erosão da carótida interna por micose da bolsa gutural são causas frequentes de choque hipovolêmico e morte quando a perda sanguínea ultrapassa 30 % do volume circulante (MORRIS, 2000).

Nestes casos, a transfusão de sangue é uma técnica de transplante tecidual temporário, na qual se injeta sangue total ou seus componentes em paciente que tenha

sofrido grande perda ou que esteja acometido por doença no seu próprio sangue (LACERDA, 2005; BROOKS 1992). Dessa forma, a transfusão sanguínea é um tratamento emergencial visando apenas suprir as necessidades básicas para manter a vida do animal, para que haja tempo de serem tomadas medidas específicas contra a causa primária.

Na literatura sobre transfusão em grandes animais não existe nenhum trabalho que aborde a compatibilidade sanguínea ou a transfusão na espécie muar, sendo uma incógnita a possibilidade de transfusão heteróloga ou xenotransfusão para esta espécie. Para suprir a carência de doadores dentro da própria espécie, a xenotransfusão pode ser alternativa viável para clínicos de campo, uma vez que o número de equinos e asininos na maioria das propriedades é maior que dos muares. Portanto, um estudo que avalie a compatibilidade transfusional entre muares, equinos e asininos, é de grande relevância para esclarecer qual compatibilidade é possível entre essas três espécies geneticamente próximas e encontrar possíveis doadores de sangue para espécie muar.

## 1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.2.1 Transfusão sanguínea

Em pacientes críticos ou submetidos à cirurgia, a transfusão de sangue total é uma ferramenta fundamental. As indicações para transfusão em equinos incluem: anemia grave, resultante da perda sanguínea cirúrgica ou hemorragia aguda, isoeritrólise neonatal, hemólise por toxinas, drogas ou condições imunomediadas, coagulopatias e transtorno não regenerativo (HARRIS et al., 2012).

A tomada de decisão por uma transfusão por parte do clínico de equinos pode representar um desafio, principalmente se o animal sofre de hemorragia interna. Para diminuir as dúvidas alguns indicadores podem ajudar, como: estimativa de perda sanguínea maior que 30%, volume globular menor que 20%, em episódio de hemorragia aguda, lactato sérico de 4 mmol/L ou mais, mesmo após fluidoterapia, e taxa de extração de oxigênio de 50% ou mais (MUDGE, 2014).

Apesar dos esforços para prevenir complicações associadas à transfusão como a escolha do doador mais adequado e testes de reação cruzada de compatibilidade, não torna a transfusão isenta de complicações. Portanto, um monitoramento cuidadoso do destinatário é imperativo para a detecção precoce de complicações associadas à transfusão, bem como intervenção antecipada (KRISTENSEN; FELDMAN 1997).

Existem vários protocolos de infusão sanguínea e monitoramento entre profissionais, a maioria envolve avaliações mais frequentes e uma taxa de infusão mais lenta durante a fase inicial da transfusão. Isso impede que um grande volume de sangue incompatível seja colocado no receptor (YAGY; HOLOWAYCHUK, 2016). Um dos protocolos mais usados adota a velocidade de 0,1 ml/kg por 10 a 15 minutos, até que se tenha uma maior segurança de que não ocorram ou ocorrerão reações adversas, a partir do que se pode aumentar a velocidade de infusão em até 20 ml/kg/h até o final da transfusão (REICHMANN; DEARO, 2001).

Os animais receptores devem ser monitorados mesmo após a transfusão para verificar a presença de possíveis falhas no procedimento e reações, bem como avaliar a eficácia da terapia utilizada. O sucesso da transfusão de hemácias é verificado quando os sinais relacionados com a insuficiência de transporte de oxigênio como fraqueza, taquicardia, aumento de frequência respiratória e mucosa pálida, são restabelecidos. Coleta de amostras de sangue em momentos após a transfusão permite avaliar a cor do plasma e identificar possível hemólise intravascular (hemoglobinemia), alterações no



volume globular e mudanças em valores da bioquímica sérica (YAGY; HOLOWAYCHUK, 2016).

A segurança e eficácia de uma transfusão exigem que o produto sanguíneo seja obtido de um doador de baixo risco, pois a administração destes componentes coloca o receptor a um risco inerente de transmissão de doenças e de reações adversas, portanto, a transfusão só deve ser feita após a avaliação de sua importância e benefícios reais (NOVAIS, 2004).

### **1.2.2 Escolha de doadores**

Na escolha de um doador equídeo informações sobre saúde, sexo, raça e tamanho devem ser levadas em consideração. O estado sanitário é de fundamental importância, por isso doadores devem ter sempre esquema de vacinação e desparasitação em dia, além disso, serem negativos para as principais doenças infectocontagiosas dos equídeos e possuírem volume globular e concentração de proteínas totais dentro da normalidade (GONZALES 2001; DURHAM, 1996). Os doadores não devem ter histórico de transfusão prévia e de preferência que sejam indivíduos do sexo masculino, castrados ou não. Quando não possível, utilizar fêmeas sem histórico de prenhez anterior para diminuir as chances de doadores com produção de anticorpos induzida (REICHMANN; DEARO, 2001; COLLATOS, 1997; GONZALES 2001).

O ideal é que o peso do equino doador seja em torno de 540 kg ou mais, possibilitando a coleta de um maior volume de sangue. Um equino com peso de 500 kg pode doar de 6 a 8 litros de sangue, o que representa de 20 a 25% de sua volemia, ou 1,5 a 2 % do seu peso em sangue a cada 30 dias sem maiores danos (DURHAM, 1996; MORRIS, 1999).

É fundamental que o doador seja negativo para hemoaglutininas e homolisinas contra hemácias do receptor através do teste cruzado de compatibilidade, e sempre que possível comprovado por tipagem sanguínea, como negativos para os grupos Aa e Qa que são extremamente imunogênicos (MCCLURE; PARISH, 1996; REICHMANN; DEARO, 2001).

Em potros com Isoeritrólise Neonatal (IN) o lavado de hemácias da mãe pode ser utilizado para transfusão em potros muito anêmicos, caso seja contraindicada ou impossibilitada à transfusão do pai (BLACKMER; PARISH, 2002; DURHAM, 1996). Potros muares tem maior predisposição ao desenvolvimento de IN devido à presença do

“fator donkey” (CANISSO et al. 2008). O sangue de um doador equino que não tenha sido sensibilizado a esse fator é uma possibilidade no tratamento dessa enfermidade.

No doador apto a fornecer sangue para outro animal, um dos requisitos importantes para coleta do material é o temperamento do doador, sendo animais de temperamento calmo, mais fáceis de realizar coleta de sangue, principalmente onde se tem pouca mão de obra (GONZALES, 2001). Isso pode representar dificuldade para se conseguir um doador entre os muares, visto que no geral, são animais de temperamento mais arredios e de manipulação laboriosa. Outro fator que pode tornar difícil um doador muar é que na maioria das propriedades existem poucos exemplares da espécie ou muitas vezes são únicos. São raras as propriedades que produzem mulas e burros em grande número.

### **1.2.3 Tipos sanguíneos**

Na espécie equina existem sete grupos (A, C, D, K, P, Q, L) sanguíneos reconhecidos pela Sociedade Internacional de Pesquisa de Agrupamento de Sangue Animal e cada grupo pode ter vários fatores (MAMAK; AYTEKIN, 2012). Quando os grupos e fatores são combinados, existem aproximadamente 400.000 possibilidades de tipos sanguíneos. Não existe um doador universal de sangue equino. Os tipos mais importantes envolvidos nas reações transfusionais e na isoeritrólise neonatal (IN) de potros equinos e muares são os CA, Aa e Qa, por isso eles devem ser evitados. No geral, a produção de aloanticorpos de origem natural na espécie equina é rara, sendo a primeira transfusão bem tolerada (MAMAK; AYTEKIN, 2012; TOMLINSON, 2015). Um antígeno de hemácias de jumentos e mulas, chamado de “fator Donkey” não foi encontrado no cavalo, é exclusivo para asininos e muares, de modo que a utilização desses animais como doadores para equinos não é incentivada devido o risco de desenvolvimento de imunização contra este fator (MAMAK; AYTEKIN, 2012). O contrário é uma possibilidade, desde que seja confirmada a ausência de anticorpos anti “fator jumento” no sangue dos equinos doadores (MUDGE, 2014).

### **1.2.4 Teste cruzado de compatibilidade**

Com objetivo de diminuir risco de reações transfusionais, principalmente onde a tipificação sanguínea não é feita, utiliza-se testes de reação cruzada para verificar a compatibilidade entre plasma e hemácias de doadores e receptores, e assim identificar

presença de anticorpos pré-existentes causadores de hemólise e hemoaglutinação, sendo classificados como primário (reação maior) ou secundário (reação menor) (REICHMANN; DEARO, 2001).

O teste de reação cruzada maior avalia quanto à presença (achados positivos) ou à ausência (achados negativos) de níveis detectáveis de anticorpos no receptor, quer sejam de origem natural ou induzida, contra antígenos de hemácias do doador. O procedimento da prova de reação cruzada menor é semelhante ao da maior, porém, avalia a presença de anticorpos no plasma do doador contra hemácias do receptor (MIRANDA, 2014).

Para os equídeos a avaliação da aglutinação e hemólise é garantida devido à presença de anticorpos aglutinantes e hemolíticos, já para os bovinos, caprinos e ovinos se faz necessário adicionar aos testes o fator de complemento devido à baixa quantidade de anticorpos aglutinantes nessas espécies (DIVERS, 2005; JAIN, 1993).

O tempo necessário para se criar uma resposta do anticorpo às hemácias transfundidas varia entre as espécies. Dessa forma, em equinos e bovinos é recomendado que se repita a prova cruzada quando o período para realização da segunda transfusão transcorrer mais que dois dias, já para cães e gatos a necessidade ocorre com 4 ou mais dias (DIVERS, 2005; HALE 2009). Apesar de reações transfusionais imediatas em primeira transfusão, dentro da mesma espécie, serem raras, é recomendado que se faça prova de reação cruzada antes de qualquer transfusão (REICHMANN; DEARO, 2001).

### **1.2.5 Transfusão heteróloga**

A transfusão heteróloga ou xenotransfusão segundo Roux et al. (2007) consiste na transfusão de sangue de doador de uma espécie para receptor de outra. No início da medicina transfusional a xenotransfusão era prática comum. Os primeiros relatos de transfusões para seres humanos em 1667 foram realizadas com sangue de cordeiros, bezerros ou cães. Embora algumas dessas transfusões de animais para humanos levaram a reações adversas, como hemoglobinúria grave e maus resultados, outros foram relatados por terem sido bem sucedidos e fornecerem benefícios clínicos em pacientes anêmicos (ROUX et al., 2007).

Na medicina humana algumas pesquisas tentam viabilizar a utilização de sangue xenólogo, oriundo de animais domésticos, ou seus derivados na rotina clínica. Entre os motivos está a escassez de doadores em alguns lugares em certos períodos do ano e o risco, mesmo controlado, de transmissão de doenças infectocontagiosas (COOPER et

al., 2010). Entre as espécies mais estudadas como prováveis fontes de sangue para humanos se destacam as espécies bovina e suína (JOHNSTONE et al., 2004; LONG et al., 2009; COOPER et al., 2010)

Na medicina veterinária a prática de xenotransfusão já ocorre em algumas situações, ocasionalmente ou rotineiramente, da espécie canina para felina em alguns países como França, Itália e Austrália (GOWAN, 2004). No Brasil, um trabalho com transfusão de sangue de gatos domésticos para gatos selvagens mostrou ser compatível a utilização de sangue dos animais domésticos nos selvagens (PEREIRA; SILVA, 2011).

### **1.2.6 Reações transfusionais**

As hemácias de animais possuem antígenos (glicolípídeos ou glicoproteínas) em sua superfície, que os classificam em grupos sanguíneos. Estes antígenos podem reagir com anticorpos anti-eritrócitos circulantes do receptor ou doador (BELL, 1983; ABRAMS-OGG, 2000; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009). Os anticorpos podem existir de origem natural ou ser devido à experiências transfusionais prévias ou sensibilização materno-fetal. Em alguns casos, a interação dos antígenos com anticorpos anti-eritrócitos não é tão grave, porém há situações em que ocorre hemólise, mediada principalmente por IgM e sistema complemento, podendo chegar ao choque, dessa forma, qualquer que seja o tipo de reação haverá redução na eficácia da transfusão sanguínea e na sobrevivência das hemácias transfundidas (BELL, 1983; TIWARI; BALEKAR; JAIN, 2009).

A severidade das reações transfusionais é dose-dependente e seu rápido reconhecimento pode evitar maiores complicações. Por isso o paciente deve ser monitorado e ao menor sinal de reação a transfusão deve ser interrompida de 10 a 15 min e o paciente reavaliado (REICHMANN; DEARO, 2001). Um estudo relatou uma taxa de 16 % de reações transfusionais de sangue total em equinos, variando de reação de urticária leve até hemólise (HURCOMBE et al., 2007).

As reações transfusionais são tipificadas como imunomediadas ou não imunomediadas, sendo divididas como de ocorrência aguda ou tardia (STONE; COTTER, 1992).

### 1.2.6.1 Reações imunomediadas

A reação do tipo hemolítica imunomediada aguda ocorre devido a uma hemólise aguda onde os animais desenvolvem durante ou após a transfusão: febre, com aumento de 1° C, taquicardia, salivação, tremores, fraqueza, dispnéia, colapso agudo, hipotensão e convulsões. Apesar desses sinais não serem patognomônicos de hemólise aguda, a observação de possível falência renal com diminuição do débito urinário, hemoglobinemia e hemoglobinúria podem ser indícios mais fortes (HOHENHAUS, 1992). Uma hemólise tardia também pode ocorrer como resultado da opsonização das hemácias transfundidas por anticorpos IgG presentes no doador e consequente destruição destas células pelo sistema monocítico fagocitário no fígado e no baço (GOMES, 2008). Este tipo de hemólise, diferentemente da hemólise que ocorre dentro dos vasos sanguíneos, é caracterizada como hemólise extravascular, geralmente acompanhada por quadros de piroxia (PEARL; TOY; GIRISH, 1984).

A reação de hipersensibilidade é uma resposta imunológica que pode se manifestar nos primeiros minutos ou até 24 horas após a transfusão. Os sinais podem ser discretos como pequenas alterações na pele, até graves manifestações cardiopulmonares. Urticária, prurido, eritema, angioedema, êmese, dispnéia, broncoconstrição e choque são frequentemente observados neste tipo de reação (HALDANE, 2004).

As reações não hemolíticas febris (RNHF), também chamadas de sensibilidade aos leucócitos e plaquetas, são as complicações mais comuns em humanos durante os procedimentos transfusionais. (CHIARAMOTE, 2004). Um dos sinais mais comuns é o aumento de 1° C na temperatura corpórea quando nenhum outro sinal de hipertermia é observado, sendo mais comum ocorrer nos 30 minutos iniciais de transfusão (HEDDLE; KLAMA, 1999).

Dentre as reações Imunológicas tardias se destaca a isoeritrólise neonatal que ocorre devido a sensibilização das fêmeas prenhes aos antígenos presentes na membrana eritrocitária dos filhotes, que possuem grupos sanguíneos incompatíveis com as mães (HARREL; KRISTENSEN, 1995).

### 1.2.6.2 Reações não imunomediadas

A sobrecarga circulatória é um tipo de reação transfusional não imunomediada que ocorre devido ao aumento do volume circulante, induzido pela infusão de grandes

volumes sanguíneos ou por administração rápida em animais normovolêmicos, essa sobrecarga pode levar a edema pulmonar agudo. Esses sinais são mais intensos em pacientes cardiopatas, nefropatas, com insuficiência pulmonar e com anemia crônica (ABRAMS-OGG, 2000). O uso adequado da terapia transfusional com a velocidade ideal para cada paciente são as melhores formas de prevenir uma sobrecarga circulatória (HALDANE, 2004).

Embora pouco comum na medicina veterinária a hemossiderose é uma reação não imunológica tardia que pode ocorrer como consequência de múltiplas transfusões como resultado do saturamento do ferro no sistema retículo endotelial, passando o ferro a depositar-se nas células parenquimatosas. Depósitos de ferro levam a destruição do tecido normal, substituindo-o por tecido fibrótico, ocasionando lesões funcionais em órgãos como coração, fígado e glândulas endócrinas (HARREL; KRISTENSEN, 1995).

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a compatibilidade *in vitro* e *in vivo* de receptores muares em relação ao sangue equino e asinino.

### 1.3.2 Objetivos Específicos

Avaliar a ocorrência natural, no sangue muar, de hemoaglutininas ou hemolisinas pré-existentes para sangue equino ou asinino, através de reações cruzadas de compatibilidade *in vitro*;

Examinar possíveis reações clínicas, hemogasométricas, hematológicas e bioquímicas em muares após transfusão homóloga e heteróloga com sangue equino ou asinino;

Observar *in vitro*, após qual período, ocorre formação de hemoaglutininas no sangue muar após primeira xenotransfusão.

## **2 CAPÍTULO 2 – AVALIAÇÃO IN VTRO E IN VIVO DA COMPATIBILIDADE SANGUÍNEA ENTRE MUARES, EQUINOS E ASININOS**

In vitro and in vivo evaluation of blood compatibility between muars, equine and asinines

**P.R. Firmino<sup>1\*</sup>, A.G.A. Lima<sup>1</sup>, J.M. Cavalcante<sup>1</sup>, J.S. Gameleira<sup>1</sup>, F.J.A. Souza<sup>1</sup>,  
E.I.B. Lemos<sup>1</sup>, A. H. H. Minervino<sup>2</sup>, R.A. Barrêto-Junior<sup>1</sup>**



Avaliação *in vitro* e *in vivo* da compatibilidade sanguínea entre muares, equinos e asininos

*In vitro* and *in vivo* evaluation of blood compatibility between muars, equine and asinines

P.R. Firmino<sup>1\*</sup>, A.G.A. Lima<sup>1</sup>, J.M. Cavalcante<sup>1</sup>, J.S. Gameleira<sup>1</sup>, F.J.A. Souza<sup>1</sup>, E.I.B. Lemos<sup>1</sup>, A. H. H. Minervino<sup>2</sup>, R.A. Barrêto-Junior<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural do Semiárido – Mossoró/RN

<sup>2</sup>Universidade Federal do Oeste do Pará – Santarém/PA

[\\*pauloricardo83@hotmail.com](mailto:pauloricardo83@hotmail.com)

**Resumo** – Avaliou-se a compatibilidade sanguínea entre receptores muares e doadores das espécies equina, asinina e muar através de reações cruzadas de compatibilidade e avaliação transfusional. Na primeira fase investigou-se a compatibilidade *in vitro* através de reação cruzada, onde 12 muares receptores foram testados com cinco exemplares de cada espécie. A segunda fase consistiu na avaliação da compatibilidade através da transfusão de sangue homólogo e heterólogo para muares. Nove muares foram divididos em 3 grupos, e cada grupo recebeu sangue de uma das três espécies. Dados das reações cruzadas foram analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Qui-Quadrado de Pearson, e das transfusões por análise de variância de duas vias, seguido dos testes de Tukey e de Bonferoni para avaliar diferenças entre grupos e os tempos, a 5% de significância. Observou-se 76% de compatibilidade maior para asininos, 51,7% para equinos e 71,7% para muares, com escores médios de aglutinação de 0,42, 1,20 e 0,60, respectivamente. Dois animais apresentaram fasciculações compatíveis com RNHF, mas não houve alterações nos parâmetros clínicos, hemogasométricos e bioquímicos que indicassem hemólise em nenhum grupo. Reação positiva no teste maior pós-transfusional do receptor contra seu doador ocorreu em média 4 dias para equinos, 3,3 para asininos e 5,3 para muares.

**Palavras-chaves:** Transfusão, reação cruzada, aglutinação.

**Abstract** - Blood compatibility between receptor mule and donor of the equine, asinine and mule species was evaluated through cross-match and transfusion evaluation. In the first phase the compatibility was investigated through cross-matching, where twelve mules receptor were tested with five specimens of each species. The second phase consisted of the assessment of compatibility by transfusion of homologous and heterologous blood for mules. Nine mules were divided into 3 groups, and each group received blood from one of three species. Data from the cross-reactions were analyzed

by Kruskal-Wallis and Pearson's Chi-Square tests, and transfusions by two-way analysis of variance, followed by Tukey and Bonferoni tests to evaluate differences between groups and times, at 5% of significance. It was observed 76% greater compatibility for asinines, 51.7% for horses and 71.7% for mules, with mean agglutination scores of 0.42, 1.20 and 0.60, respectively. Two animals showed fasciculations compatible with RNHF, but there were no changes in clinical, hemogasometric and biochemical parameters indicating hemolysis in any group. Positive reaction in the major post-transfusional test of the recipient against its donor occurred on average 4 days for horses, 3.3 for asininos and 5.3 for mules.

**Keywords:** Transfusion, cross-matching, agglutination.

## INTRODUÇÃO

Os muares (*equus caballus* x *equus asinus*) são animais híbridos resultado do acasalamento entre espécies equina (*Equus caballus*) e asinina (*Equus asinus*). A diferença no número de cromossomos dos progenitores dessa espécie, equinos com 32 pares e asininos com 31, geram animais com carga genética formada por 63 cromossomos. Essa quantidade ímpar de cromossomos é responsável pela esterilidade geralmente observada nos muares, pois se tornam incapazes de formar pares de cromossomos homólogos, durante a gametogênese (Miranda, 2014).

Como os demais equídeos utilizados no trabalho doméstico e para esportes, os muares estão sujeitos a acidentes, traumas e doenças que provocam redução no volume sanguíneo ou diminuição do número de células do sangue. Em equinos, hemorragias pós-castração, ruptura de artéria uterina ou ilíaca e erosão da carótida interna por micose da bolsa gútural são causas frequentes de choque hipovolêmico e morte destes animais quando a perda sanguínea ultrapassa 30 % do volume circulante (Morris, 2000).

Outro problema que ocorre em potros muares é a isoeritrólise neonatal (IN), uma enfermidade hemolítica de potros neonatos que ocorre em 1 a 2% dos partos (Prestes e Alvarenga, 2006). Segundo Canisso *et al.* (2008), os potros muares junto com equinos das raças das Standardbred e Puro Sangue Inglês, apresentam maior predisposição a desenvolver esta enfermidade.

Quadros anêmicos graves também são observados nas hemoparasitoses, onde os agentes se instalam nas hemácias e se multiplicam até provocarem lise das células. A *Theileria equi* e a *Babésia cabali* são os dois principais microrganismos transmitidos

pelo carrapato, causadores de quadros anêmico hemolíticos em muares, equinos e asininos (Reed e Bayly, 2000).

Os muares, geralmente, são animais de comportamento arreadio e manipulação mais laboriosa quando comparado aos asininos e equinos. Segundo Gonzales (2001) o temperamento é uma característica fundamental na escolha de um doador. Dessa forma, para suprir a carência de doadores dentro da própria espécie muar, o sangue heterólogo pode ser uma alternativa viável para os clínicos de equídeos. Além disso, o número de equinos e asininos na maioria das propriedades é maior que dos muares.

Na literatura sobre transfusão em grandes animais inexistente trabalho que aborde a compatibilidade sanguínea ou a transfusão na espécie muar, sendo uma incógnita a possibilidade de utilização de sangue heterólogo para esses animais. Portanto, o objetivo do estudo foi avaliar a compatibilidade transfusional entre muares, equinos e asininos, esclarecer qual compatibilidade é possível entre o muar receptor e as duas espécies geneticamente próximas e encontrar doadores alternativos de sangue para esta espécie.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo foi realizado no Laboratório de Medicina Interna Veterinária (LABMIV) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), respeitando os padrões éticos e cuidados com os animais, sendo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) dessa instituição, sob o número de processo 23091.009934/2017-97 (Parecer nº 24/2017).

Foram utilizados um total de 27 animais sendo 5 da espécie equina, 5 da espécie asinina e 17 muares. Todos os animais eram do sexo masculino, entre 3 e 15 anos de idade, saudáveis e sem histórico de transfusão. No início do estudo todos os animais receberam aplicação de endectocida e foram submetidos a um período de 30 dias de adaptação às novas condições de alimentação e manejo. Durante o período de adaptação e no decorrer do estudo os animais foram alimentados com 3% do peso vivo (PV) de volumoso de feno de Tifton (*Cynodon spp.*), 1% do PV de concentrado a base de farelo de milho, trigo e soja e suplementados com sal mineral à vontade.

O trabalho foi dividido em duas fases, na primeira avaliou-se a compatibilidade sanguínea *in vitro* entre receptores muares e doadores das espécies equina, asinina e muar através de reações cruzadas de compatibilidade maior e menor. Dessa forma, os 27 animais do estudo foram divididos da seguinte maneira: doze muares formaram o grupo de animais receptores e cinco equinos, cinco asininos e cinco muares, formaram o

grupo dos doadores de sangue para a realização dos testes cruzados. A segunda fase consistiu na avaliação da compatibilidade *in vivo* onde foi realizada a transfusão de sangue homólogo (sangue muar) e heterólogo (sangue equino e asinino) para espécie muar com base em animais compatíveis nos resultados dos testes *in vitro*. Nessa fase, foram utilizados como receptores nove muares divididos em 3 grupos de três animais. Os receptores de cada grupo foram selecionados para serem compatíveis, pelos testes *in vitro* de compatibilidade, com animais da espécie destinada a doar para o seu grupo, equinos, asininos ou muares.

Para realização dos testes cruzados de compatibilidade foram coletadas amostras de sangue total por meio de venopunção da jugular e em seguida o material foi acondicionado em tubos estéreis com e sem anticoagulante do tipo EDTA e armazenados em sistema refrigerado entre 2° a 6°C, entre os intervalos do processamento das amostras que foi de no máximo 24 h. A metodologia para os testes de reação cruzada maior e menor foi realizada segundo a técnica descrita por Brown e Vap (2015). Testes com resultados negativos para avaliação macroscópica foram também avaliados por microscopia.

Cada um dos 12 muares receptores foi avaliado através da reação cruzada lenta em tubos, com 5 amostras de sangue das três espécies pesquisadas, totalizando 60 testes maiores e 60 menores para cada espécie avaliada, mais 27 testes controle.

No estudo da compatibilidade *in vivo*, para calcular o volume a ser transfundido em cada muar tomou-se como base uma suposta perda de 20 % do volume total de sangue circulante (8 % do PV) e a reposição mínima eficaz, segundo Mudge (2014) de 25% da perda sanguínea. Assim, cada animal no experimento que foi transfundido recebeu a quantidade de 4 ml/kg de peso vivo de sangue total. Os receptores não foram submetidos à retirada de sangue, a perda sanguínea foi hipotética, utilizada apenas para cálculo do menor volume significativo de sangue para transfusão. Dessa forma a distribuição dos grupos ficou da seguinte maneira: G1 - recebeu 4 ml/kg de peso vivo do sangue equino; G2 - recebeu 4 ml/kg de peso vivo do sangue asinino e G3 – recebeu 4ml/kg de PV do sangue muar.

Os nove muares selecionados como receptores dentro o grupo dos 12 avaliados nos testes *in vitro* de compatibilidade possuíram peso médio de 250 kg (S=26,6 kg), os quais foram transfundidos com um volume médio de 1000 ml (S =106,6 ml) de sangue total.

O sangue foi acondicionado em bolsas estéreis contendo solução preservativa citrato fosfato dextrose adenina CPDA-1 (Terumo<sup>®</sup> Medical do Brasil) com capacidade para 450 ml de sangue. A quantidade de sangue total a ser retirada de cada doador foi estabelecida de acordo com o volume calculado para infusão no receptor (4 ml/kg de PV do receptor). Cada doador foi coletado uma única vez e o controle do volume a ser extraído se deu através de pesagem em balança comercial, adotando-se o peso de 1 grama para cada ml de sangue. O volume retirado em todos os doadores foi inferior à quantidade máxima segura recomendada para doação, segundo Collatos (1997), que é de 20 ml/kg de PV. As bolsas foram armazenadas em geladeira com temperatura controlada (1° a 6°C) até o momento da transfusão que foi no máximo 24 h após coleta.

O sangue foi transfundido inicialmente de forma lenta a uma velocidade de 0,1 ml/kg durante os primeiros 15 minutos onde foram avaliadas possíveis reações transfusionais. Uma vez que os animais não apresentassem reações que impedissem o prosseguimento da transfusão, a velocidade de administração foi elevada para 10 ml/kg/h até que se completasse a infusão de todo volume, como indicado por Reichmann e Dearo (2001).

Antes e após a transfusão cada animal foi avaliado clinicamente e submetido a coletas em tempos experimentais (T) previamente estabelecidos, a saber: T0 (antes da transfusão), T1 (15 min. do início da transfusão), T2 (final da transfusão), T3 (uma hora após a transfusão), T4 (três horas após a transfusão), T5 (seis horas após a transfusão), T6 (doze horas após a transfusão), D1 (24 horas após a transfusão), D2 (2 dias após a transfusão), D3 (três dias após a transfusão), D4 (quatro dias após a transfusão), D5 (cinco dias após a transfusão), D6 (seis dias após a transfusão) e D7 (sete dias após a transfusão). As coletas de sangue foram realizadas por venopunção da jugular contralateral à utilizada para a infusão do sangue transfundido, sendo coletado em média 7 ml de sangue total por cada tempo. As amostras coletadas foram submetidas à avaliação hematológica, bioquímica e hemogasométrica. Testes cruzados de compatibilidade de cada receptor com o seu respectivo doador foram realizados nos dias que seguiram a transfusão até que ocorresse a hemoaglutinação do sangue muar ou até que se completassem sete dias pós-transfusões.

Os exames físicos dos animais para verificação dos parâmetros de frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR), temperatura retal (TR), coloração das mucosas e tempo de preenchimento capilar (TPC), foram realizados segundo Feitosa (2014). Além dos parâmetros vitais, foi observado atentamente qualquer sintomatologia

ou alteração como mudança na coloração de urina, tremores e urticária que indicasse alguma reação transfusional (Feldman e Sink, 2007).

A contagem de eritrócitos, leucócitos totais, mensuração de volume globular e hemoglobina total foram realizados com 3 mL de sangue total coletados de cada animal em tubos contendo EDTA. A contagem de eritrócitos e leucócitos foi determinada pelo método manual em Câmara de Neubauer por macrodiluição seguindo os procedimentos de Hendrix (2005). A mensuração do volume globular foi obtida em centrífuga para micro-hematócrito, sendo utilizados tubos capilares de 75 mm, onde as amostras foram centrifugadas a 10.000 rpm por 5 minutos e, posteriormente, lidas em uma tabela de microhematócrito (Kerr, 2003).

A concentração de hemoglobina total foi determinada pelo método da cianometahemoglobina, com leitura ( $\lambda=540\text{nm}$ ) em analisador bioquímico semi-automático BIO-2000 IL (Bioplus, Brasil<sup>®</sup>).

Para avaliação bioquímica foram utilizados 3 ml de sangue total em tubos sem anticoagulante, em todos os tempos de coleta, exceto em T1. As amostras foram centrifugadas a 1500 G por 15 minutos para obtenção do soro. A avaliação bioquímica foi realizada a partir da determinação das concentrações de ureia (URE), creatinina (CREAT), bilirrubina total (BT), direta (BD) e indireta (BI), aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e gama glutamiltransferase (GGT). As avaliações bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático HumaStar 80 (HUMAN Diagnostics<sup>®</sup>) usando kits comerciais apropriados para o equipamento.

A avaliação hemogasométrica foi realizada em amostras de sangue total venoso, coletada em seringas heparinizadas de 1 ml, nos seguintes tempo: T0, T1, T2, T3, T4, T5, T6, D1, D3 e D7. As amostras foram analisadas em um gasômetro de bancada modelo OMNI C, Roche Diagnostics. Os parâmetros avaliados foram: potencial hidrogeniônico (pH), pressão parcial de oxigênio ( $pO_2$ ), pressão parcial de dióxido de carbono ( $pCO_2$ ), saturação de oxigênio ( $SO_2$ ) e bicarbonato ( $HCO_3^-$ ).

A dosagem de sódio ( $Na^+$ ) e potássio ( $K^+$ ) foi obtida durante a avaliação hemogasométrica do sangue venoso.

Para se conhecer a distribuição dos dados obtidos nas diversas variáveis estudadas, os mesmos foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados que apresentaram distribuição normal foram submetidos inicialmente à análise de variância de medidas repetidas de duas vias (Two-way repeated measure ANOVA).

Quando observado resultado significativo os dados foram submetidos ao teste de comparação múltipla de Tukey para avaliar diferenças entre os grupos experimentais e ao teste de Bonferoni para avaliar diferenças entre os tempos experimentais. Para avaliação dos resultados da prova de compatibilidade cruzada, que apresentou distribuição não Guassiana, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, para se verificar diferenças entre as intensidades de reação. Adicionalmente, os dados da prova de compatibilidade foram classificados em reação positiva ou negativa e submetidos ao teste do qui-quadrado de Pearson para verificar diferenças na frequência de testes positivos e a espécie animal doadora. Foi utilizado software estatístico GraphPad Prisma para execução das análises sendo considerado um nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Os resultados da avaliação *in vitro* foram expressos com base em escores, onde o grau máximo de aglutinação (4+) foi atribuído escore 5 e o grau mínimo (aglutinação microscópica, não importando a intensidade) recebeu escore 1. Os escores 2,3 e 4 foram atribuídos aos graus de aglutinação 1+, 2+ e 3+, respectivamente. O resultado do escore médio de aglutinação por teste realizado é demonstrado na Tab. 1.

Tabela 1. Representação dos escores médios de aglutinação (X), desvios padrões (S), valores máximos (Max.) e mínimos (Min.) e mediana (Med.) dos testes cruzados de compatibilidade, tendo a espécie muar como receptora.

Espécie doadora	N	Reação cruzada maior			Reação cruzada menor		
		X ± S	Min. - Max.	Med.	X ± S	Min. - Max.	Med.
Asinino	60	0,42 ± 0,87	0 – 4	0 <sup>a</sup>	2,20 ± 1,44	0 – 5	2 <sup>a</sup>
Equino	60	1,20 ± 1,33	0 – 4	0 <sup>b</sup>	1,17 ± 1,26	0 – 5	1 <sup>b</sup>
Muar	60	0,60 ± 1,06	0 – 4	0 <sup>a</sup>	0,47 ± 0,87	0 – 3	0 <sup>c</sup>
P*			0,001			<0,001	

\* Letras diferentes na mesma coluna indicação diferença pelo teste de Kruskal-Wallis.

Foi observado na reação cruzada maior, para a combinação muar-equina, um escore 1,2 de aglutinação, sendo superior (p= 0,001) ao observado para as outras combinações muar-asinina (0,42) e muar-muar (0,60). Já na avaliação da reação menor foi encontrado diferença (p <0,001) entre os três grupos testados, sendo a combinação muar-asinina a que teve o maior escore, 2,20 e a muar-muar o menor (0,47).

Na avaliação da frequência dos resultados das reações cruzadas entre os animais testados, considerando apenas animais positivos, não importando o grau de reação, foram encontradas diferenças entre as espécies doadoras em ambas as reações, maior ( $p=0,009$ ) e menor ( $p<0,001$ ).

Foi observado que a espécie asinina possui o maior percentual de compatibilidade na reação maior (76,7%) onde foram encontrados 46 testes negativos dos 60 avaliados. Esse resultado é próximo ao observado para os doadores da própria espécie, os muares, que possuíram 43 testes negativos (71,7%). O menor percentual de compatibilidade foi obtido nos doadores equinos com 31 resultados negativos, portanto 51,7% de compatibilidade maior. Os resultados da reação menor mostraram os muares doadores com 73,3 % (44) de compatibilidade, seguido pelos equinos, com 45% (27) e asininos com apenas 18,3% de compatibilidade e 11 testes negativos para aglutinação. Não houve nenhum teste positivo para hemólise (Tabela 2).

Tabela 2. Frequência de animais positivos ou negativos no teste compatibilidade cruzada para a reação maior e menor de muares receptores.

Espécie doadora	Reação cruzada maior		Reação cruzada menor	
	N (%)		N (%)	
	Compatível	Incompatível	Compatível	Incompatível
Asinino	46 (76,7)	14 (23,3)	11 (18,3)	49 (81,7)
Equino	31 (51,7)	29 (48,3)	27 (45,0)	33 (55,0)
Muar	43 (71,7)	17 (28,3)	44 (73,3)	16 (26,7)
P*	0,009		<0,001	

\*Análise estatística por meio do teste de Qui-Quadrado de Pearson considerando apenas resultados negativos ou positivos nos testes de compatibilidade.

A duração média da transfusão em todos os animais foi de 39 minutos, sendo 15 minutos de infusão lenta (0,1ml/kg) e 24 min da infusão com velocidade maior (10ml/kg/h). Não foi observado nenhum sinal clínico de reação transfusional grave, portanto a taxa de infusão foi a mesma para todos os animais.

Dos 9 animais transfundidos 7 (77,7%) apresentaram episódios de defecação entre 15 min (T1) do início da transfusão e o final (T2). Sendo dois do G1, três do G2 e dois do G3. Foi observado, que 3 animais (33,3%) tiveram episódios de micção até uma hora após transfusão (T3) e que os demais até 3 horas após (T4). Em todos os animais a urina apresentou coloração normal sem evidência de hemoglobinúria.

Em dois animais (22,2%), um do G1 e outro do G3, foram observadas leves fasciculações na musculatura dos membros pélvicos após 15 min da transfusão. Como não se constatou outros sinais clínicos que impedissem o prosseguimento da infusão, a



velocidade foi mantida de acordo com o estipulado e antes mesmo do final da transfusão as fasciculações cessaram. Na avaliação da coloração das mucosas e do tempo de preenchimento capilar, não foi observado alteração ao longo do tempo em nenhum dos animais, permanecendo em todo estudo rosadas e menor que 2 segundos, respectivamente. Na avaliação dos parâmetros clínicos FC, FR e TR também não foram observados diferença entre os tempos e grupos testados ( $p>0,05$ ).

Os grupos não diferiram entre si ( $p>0,05$ ) nas análises hematológicas de volume globular, contagem de eritrócitos, hemoglobina total e leucócitos. Mesmo não havendo diferença estatística, todos os grupos tiveram aumento numérico de volume globular  $\geq 1,37\%$  na avaliação de 1 hora (T3) em relação ao tempo T0. Da mesma forma foi observado na contagem de eritrócitos, onde se verificou elevação numérica, mas não significativa, em todos os grupos no momento D1 em comparação ao T0.

Na avaliação da função renal dos animais transfundidos, através da bioquímica sérica, foi encontrado aumento ( $p<0,05$ ) da ureia sanguínea nos momentos D1 (28,0 mmol/L) e D2 (29,67 mmol/L) do G2 e momento D4 (23,0 mmol/L) do G3. A creatinina se mostrou mais elevada que o basal no momento T2 e T3 do G1, com valores de 1,43 mmol/L em ambos tempos.

A mensuração das enzimas hepáticas GGT e ALT não apresentou diferença ( $p>0,05$ ) entre os grupos nem entre os tempos em relação ao T0 dos mueres transfundidos. Apenas no G3 a enzima AST mostrou aumento ( $p<0,05$ ) nos momentos T5 e T6 (6 e 12 h) com valores de 236 e 234 U/L, respectivamente, em relação ao basal. As bilirrubinas total, direta e indireta não apresentaram diferença ( $p>0,05$ ) ao longo dos momentos analisados nem entre os grupos avaliados.

Na avaliação da hemogasometria os valores de pH,  $p\text{CO}_2$ ,  $p\text{O}_2$  e  $\text{SO}_2$  e Bicarbonato não diferiram entre os grupos e se mantiveram no nível da linha de base até o final do estudo. Os valores dos íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  também não tiveram alterações significativas ( $p>0,05$ ).

Os testes de reação cruzada realizados após transfusão entre doador e receptor dos nove mueres transfundidos, mostrou que no G1 a reação maior positiva se deu, em todos animais, a partir do 4º dia após a transfusão (média de 4 dias), já para o grupo G2 um animal apresentou reação positiva no 2º dia e ou outros no 4º (média de 3,3 dias), e no G3 um animal apresentou reação no 4º dia, outro no 5º dia e outro no 7º dia, com período médio de 5,3 dias.

## DISCUSSÃO

Na avaliação dos testes cruzados foi percebido que além dos próprios muares, as espécies equina e asinina são potenciais doadores de sangue para os muares tendo em vista que ambas apresentaram um percentual significativo acima de 50% de compatibilidade nos testes de reação maior.

A espécie asinina foi a que teve o menor escore médio de reação e maior frequência de compatibilidade entre as três espécies doadoras no teste maior. Embora os asininos doadores tenham apresentado elevada taxa de incompatibilidade na reação menor, a transfusão para os muares com sangue dessa espécie se justifica, em alguns casos, devido a menor importância dado ao teste de reação menor pelos autores, uma vez que o volume de plasma transfundido é significativamente menor que o plasma do receptor e é, em última análise, diluído, especialmente quando se transfunde papa de eritrócitos (Giger, 2000).

A alta taxa de incompatibilidade no teste menor reflete elevada prevalência de anticorpos aglutinantes no sangue asinino contra hemácias de muares, não sendo recomendadas terapias com transfusão de plasma em neonatos muares com falha na ingestão de colostro ou septicemias, sobretudo se não forem realizados testes de reação cruzada, já que volumes acima de 1000 ml podem ser requeridos nestas terapias segundo Felipe (2013). De qualquer maneira, sempre que possível, deve-se optar por animais doadores negativos para as duas reações. Hurcombe *et al.* (2007) verificaram que em 7 equinos com reações pós-transfusionais, 3 tinham testes positivos apenas no teste menor.

A espécie equina apresentou menor diferença de resultados entre reações maiores e menores tanto nos escores, quanto nas frequências de compatibilidade, esse resultado torna os cavalos mais favoráveis que os asininos na doação de plasma à espécie muar.

Nenhum teste de reação cruzada foi positivo para hemólise, esse resultado é explicado, segundo Sentsui e Kono (1987), pela ausência de um fator de complemento exógeno, sem o qual os anticorpos hemolíticos dos equídeos não ativam a via clássica do complemento. No entanto Tomlinson *et al.* (2015) verificaram que independente de hemolisinas serem identificadas ou não, o teste aglutinante é útil para prever hemólise e que a aglutinação está sempre presente quando o teste é incompatível.

Os episódios de defecação de 7 dos 9 animais transfundidos pode ser explicado devido a sensação de medo e fuga, provavelmente, ocasionado pela manipulação dos

animais durante a transfusão, mesmo utilizando formas de manejo para minimizar o estresse. Segundo Santos *et al.* (2016) nessas situações as atividades mioelétricas dos cólons e reto aumentam, o trânsito colônico se abrevia, despertando o estímulo de evacuação. Já os episódios de micção, podem ser justificados pelo aumento da volemia e consequente elevação na perfusão renal, aumentando a taxa de filtração glomerular e consequentemente aumentando a produção urinária (Ceregatti, 2016).

Os dois casos de fasciculações transitórias observadas no estudo podem ser explicados devido a provável Reação Não-Hemolítica Feбри (RNHF), que mesmo não ocorrendo elevação da temperatura, ocorre devido a sensibilidade aos leucócitos transfundidos, como relatado por Sousa *et al.* (2012).

O volume de sangue utilizado nas transfusões do estudo, 4 ml/kg, foi inferior ao recomendado por Reichmann e Dearo (2001) para elevar o hematócrito em 3 a 4%, que é de 10 a 15 ml/kg do receptor. A quantidade utilizada no estudo foi determinada pelo objetivo do trabalho, que foi analisar estritamente a compatibilidade entre os animais de espécies distintas, e a inexistência de trabalhos com transfusão heteróloga em muare que desse respaldo a infusão de volumes maiores.

Na avaliação hematológica, mesmo não havendo diferença ( $p>0,05$ ) com relação ao T0, o volume globular, número de hemácias e hemoglobina total sofreram pequenas elevações numéricas após uma hora de transfusão (T3). O aumento desses parâmetros depende, além do volume administrado, de outros fatores como, por exemplo, o hematócrito do doador e receptor. O aumento do hematócrito e da contagem de hemácias, mesmo não diferindo do momento T0, está dentro do esperado proposto pelo cálculo da fórmula descrita por Reichmann e Dearo (2001) para estimativa do volume a ser transfundido e aumento esperado de hematócrito.

A manutenção dos parâmetros clínicos de FC, FR e TR sem alteração em relação ao T0 e dentro dos limites fisiológico ( $p>0,05$ ) é explicada pela ausência de sangria dos animais antes da transfusão e a formação de pares receptor-doador compatíveis, restringindo o aparecimento de reações. Isso corrobora os resultados de Mudge *et al.* (2012) avaliando cinco transfusões em equinos compatíveis, onde também não se verificou alterações nesses parâmetros.

Em processo hemolítico agudo, devido à sobrecarga renal causada pela hemoglobinemia, os rins estão entre os primeiros órgãos a sofrerem falhas (Savage, 2016). Na avaliação da função renal desse estudo, apesar dos aumentos nos valores de ureia em D1 e D2 do G2 e momento D4 do G3, e creatinina no T2 e T3 do G1, ambos

os parâmetros tiveram seus valores sempre dentro da referência para a espécie (RIBEIRO et al., 2004). Este resultado, associado à ausência de alteração de coloração do plasma e urina, em todos os grupos, sugere que não houve episódio hemolítico agudo nem danos renais.

A bilirrubina é o principal produto da metabolização da hemoglobina (Tennant e Center, 2008). Na avaliação das bilirrubinas séricas total, direta e indireta, que estão sempre elevadas na ocorrência de hemólise, principalmente a indireta nos casos de hemólise extravascular (Figuera, 2007), não mostrou diferença em relação ao basal, o que sinaliza que, também, não ocorreu hemólise extravascular em nenhum grupo.

A análise de GGT, ALT e AST foi realizada para verificar possíveis lesões hepáticas pós-transfusionais. A atividade dessas enzimas não diferiu entre grupos ( $p > 0,05$ ). Porém, entre os tempos observou-se aumento em T5, T6 e D7 do G3 da enzima AST ( $p < 0,05$ ), mesmo assim ela se manteve dentro do fisiológico esperado para espécie encontrados por Ribeiro *et al.*, (2004) e Gul *et al.*, (2007) avaliando animais saudáveis. Diante dos níveis normais das enzimas hepáticas percebe-se que na transfusão de sangue homólogo e heterólogo, compatíveis nos testes cruzados, não ocasionou lesão hepática nos muare.

As análises hemogasométricas pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub> e SO<sub>2</sub> e Bicarbonato não revelaram distúrbios metabólicos ou respiratórios, mantendo-se dentro da normalidade.

Outra variável importante na demonstração de reação hemolítica é o nível sérico do K<sup>+</sup>, ele é o principal íon intracelular e está intimamente relacionado ao Na<sup>+</sup> no funcionamento da bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> da membrana eritrocitária. A manutenção dos valores desses íons dentro do fisiológico recomendado para equinos e sem alterações entre os grupos e tempos desse estudo, corrobora os achados de que a transfusão autóloga e heteróloga, em pacientes muare compatíveis, não induz hemólise.

O teste cruzado de compatibilidade em solução salina é o mais utilizado em equinos (Tocci, 2010). Em um estudo, dois de quatro equinos que receberam sangue compatível no teste cruzado tiveram reações anafiláticas (Kallfelz et al. 1978). Por outro lado, em um trabalho retrospectivo, quatro de seis cavalos que mostraram reação transfusional tiveram incompatibilidade na reação cruzada. No presente estudo, o teste de compatibilidade in vitro de reação cruzada apresentou de valor preditivo para atestar a segurança da transfusão em equídeos de sangue não tipificados. Mesmo em espécies diferentes, nenhuma transfusão ocasionou o aparecimento de reação transfusional grave.

Na avaliação da reação cruzada maior pós-transfusional observou-se que os muares parecem produzir anticorpos contra hemácias da própria espécie mais tardiamente que para as espécies equina e asinina. A avaliação desse período é importante para aqueles pacientes que necessitam mais de uma transfusão. Embora apenas um animal (G2), entre todos avaliados, tenha produzido reação antes do 4º dia. A indicação de Miranda (2014) que, por medida de segurança, a reação cruzada em equídeos necessita ser repetida após o 2º dia de transfusão, caso outra terapia sanguínea seja requerida, é válida também para os muares.

## **CONCLUSÃO**

Os muares possuem compatibilidade sanguínea com as duas espécies geneticamente próximas, equina e asinina. Possuindo baixa quantidade de anticorpos aglutinantes preexistentes contra hemácias para as espécies equina e asinina.

O teste de reação cruzada de compatibilidade se mostrou eficiente para espécie muar na seleção de doadores de sangue dentro da própria espécie e nas espécies equina e asinina.

A transfusão para muares de sangue autólogo e heterólogo dessas espécies, é uma terapia segura para muares que precisem de uma primeira reposição sanguínea, desde que sejam realizados os testes de reação cruzada.

A produção de anticorpos contra hemácias transfundidas ocorreu em períodos distintos para cada tipo de doador utilizado, devendo ser preconizado uma nova avaliação cruzada de compatibilidade sempre que uma segunda transfusão seja requerida.

**REFERÊNCIAS**

- ABRAMS-OGG, A. Practical Blood Transfusion. In: DAY, M. J.; MACKIN, A.; LITTLEWOOD, J. D. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. British Small Animal Veterinary Association, 2000. cap. 15, p. 263 – 307.
- BLACKMER, J.; PARISH, S. Diseases caused by alllogeneic incompatibilities. In: Large Animal Internal Medicine, 3rd ed., Smith BP (ed.), Mosby Elsevier Science, St. Louis, p. 1604 – 1613, 2002.
- BROOKS, M. Transfusion medicine. In: Murtaugh, R. J.; Kaplan, P.M. Veterinary Emergency and Critical Care Medicine. Saint Louis: Mosby Yearbook. 1992. 935p.
- BROWN, D.; VAP, L. Princípios sobre transfusão sanguínea e reação cruzada. In: THRALL, M.A. (Ed.). Hematologia e bioquímica clínica veterinária. São Paulo: Roca, 2015. p.177-190.
- CANISSO, I.F.; SOUZA, F.A.; PALHARES, M.S. Isoeritrólise Neonatal Equídea. Revista Brasileira de Medicina Equina. V.3, p, 30-36, 2008.
- CEREGATTI, M.G.; VOLPATO, J.; MATTOSO, C. R. S. et al. Determinação da influência da fluidoterapia nos parâmetros hematológicos e urinários em cães. Brazilian J. Vet. Med., V.38, p.292-298, 2017.
- CHIARAMOTE, D. Blood-component Therapy: Selection, Administration and Monitoring. Clinical Techniques in Small Animal Practice., v. 19, n. 2 (May), 2004, p. 63 – 67.
- COLLATOS, C. Blood and blood component therapy. In: Robinson NE. (Ed.) Current Therapy in Equine Medicine. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997. p. 290–292.
- COOPER, D.K.C.; HARA, H.; YAZER, M. Genetically engineered pigs as a source for clinical red blood cell transfusion. Clin. Lab. Med. V.30, p.365–380, 2010.
- DE OLIVEIRA J. 2004. Adequação da hemodiálise em equinos hígidos: Avaliação clínica e laboratorial. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 289p.
- DIVERS, T. Blood component transfusions. Vet. Clin. North Am Food Anim Pract., V. 21, p. 615–22, 2005.
- DURHAM, A. E. Blood and plasma transfusion in the horse, Equine Vet. Educ., v. 8, n. 1, p 8-12, 1996.
- FELIPPE, M.J.B. Imunodeficiências Primárias em Equinos. Veterinária e Zootecnia. V. 20, p.60-72, 2013.
- FIGHERA, R.A. Anemia hemolítica em cães e gatos. Santa Maria-UFSM, Acta Sci. Vet., V.35, p264-266, 2007.

GIGER, U. Blood typing and crossmatching to ensure compatible transfusions. In: Kirk 's Current Veterinary Therapy XIII, Bonagur a JD (ed.), Philadelphia: WB Saunders , Philadelphia, pp. 39 6 – 9, 2000 .

GOMES, S. G. R.; Hemocomponentes e Principais Aplicações na Terapia Intensiva Veterinária. In: SANTOS, M. M.; FRAGATA, F. S. Emergência e Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais. 1ª edição. São Paulo, ROCA, 2008. cap. 16, p. 191 – 207.

GONZALES, G.L; How to establish an equine blood donor protocol. AEEP proceedings. V.47, p. 262, 2001.

GOWAN, R. Canine blood transfusion in a cat with erythroid leukemia. In: Proceedings of the Australian College of Veterinary Scientists Science Week, Surfer's Paradise, QLD, Australia, 2-4 July 2004, pp 29–30. 5.

GUL, S.T.; AHMAD, M.; KHAN, A. et al. Haemato-biochemical observations in apparently healthy equine species. Pakistan veterinary journal., V. 27, p.155, 2007.

HALDANE, S.; ROBERTS, J.; MARKS, S. L.; RAFFE, M. R. Transfusion Medicine. Compend. Cont. Educat. Pract. Vet. 2004. v. 26, n. 7, p. 502 – 518.

HALE, A. Personal communication. Animal Blood Resources International, 4983 Bird Dr., Stockbridge , MI49285. 2009.

HARRIS, M.; NOLEN-WALSTON, R.; ASHTON, W. et al. Effect of sample storage on blood crossmatching in horses. J. Vet. Intern. Med., V.26, p.662–667, 2012.

HEDDLE, N.M.; KLAMA, R.; MEYER, R. I. et al. A randomized controlled trial comparing plasma removal with white cell reduction to prevent reactions to platelets. Transfusion v.39, p. 231 – 238, 1999.

HENDRIX, C.M. Procedimentos Laboratoriais para Técnicos Veterinários. (Ed). 4. São Paulo: Roca, 2005. p.576.

HOHENHAUS, A. E. Canine Blood Transfusion. Problems in Veterinary Medicine. vol. 4. n. 4, p. 612 – 623, 1992.

HURCOMBE, S.D.; MUDGE, M.C; HINCHCLIFF, K.W. Clinical and clinicopathologic variables in adult horses receiving blood transfusions: 31 cases (1999-2005). J. Am. Vet. Med. Assoc., V. 231, p.267-274, 2007.

JAIN, N. C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea &Febiger, 1993. 417 LAEMMLI, Ulrich K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. nature, v. 227, p. 680-685, 1970.

JOHNSTONE, J.E.; MACLAREN, L.A.; DOUCET, J.; MCALISTER, V.C. In vitro studies regarding the feasibility of bovine erythrocyte xenotransfusion. Xenotransplantation, 2004.

KERR, M. G. Exames laboratoriais em medicina veterinária: Bioquímica Clínica e Hematologia. (Ed). 2. São Paulo: Roca, 2003. p. 95-106.

KRISTENSEN A.T.; FELDMAN B.F. Bancos de sangue e medicina transfusional, p.497-516. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), Tratado de Medicina Interna Veterinária. 4ª ed. Manole, São Paulo. 1997.

LACERDA, L. Transfusão sangüínea em veterinária: desafios a vencer. In: González, F.H.D., Santos, A.P. (eds.): Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.62-81. 2005.

LONG, C.; HARA, H.; PAWLIKOWSKI, Z.; KOIKE, N.; D'ARVILLE, T.; YEH, P. et al. Genetically-engineered pig red blood cells for clinical transfusion: initial in vitro studies *Transfusion*, 49 (2009), pp. 2418-2429.

MAMAK, NURI; AYTEKIN, İSMAIL. Principles of Blood Transfusion. Cap 16, p. 321-350, 2012.

MCCLURE, J.J.; PARISH, S.M. Diseases caused by allogenic incompatibilities. In: Smith BP. Large Animal Internal Medicine, 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book. p. 1862–1867, 1996.

MIRANDA, G.M.D. Validação do analisador hematológico automático BC-2800 VET® para realização de hemogramas de muare. 2014. Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP, Campus de Araçatuba,

MORRIS, D.D. Doenças do sistema hemolinfático. In: REED, S.M.; BAYLY, W.M. (Ed) Guanabara Koogan. Medicina Interna Equina. Rio de Janeiro, 2000, p.481-518.

MUDGE, M.C. Acute Hemorrhage and blood transfusions in horses. *Vet. Clin. North. Am. Equine Pract.*, V.30, p.427-436, 2014.

NOVAIS, A.A.; FAGLIARI, A.A.; SANTANA, A.E. Prevalência dos antígenos eritrocitários caninos (Dea – dog erythrocyte antígeno) em cães domésticos (*Canis familiaris*) criados no Brasil / Dea (dog erythrocyte antigen) prevalence in domestic dogs (*Canis familiaris*) reared in Brazil). *Ars Veterinária*, Jaboticabal, SP, Vol. 20, nº. 2, 212-218, 2004.

OLIVEIRA, V. B.; BARROS, S. S.; ALMEIDA, F.Q. *Muare*: Como tema transversal para o ensino medio e tecnico em Agropecuaria. Rio de Janeiro, RJ. Publit. p. 123, 2007.

PEARL, T.C.Y; TOY, M.D; GIRISH, N.V. Blood transfusion reactions. In: ENGEFRIET, C.P; VAN LOGHEM, J.J, VON DEM BORNE; A.E.G.K, editors. *Immunohaematology*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers; 1984. p.119 – 135.

PEREIRA; SILVA, T. D. Tipagem e Teste de Compatibilidade Sanguínea, Caracterização Hematológica e Bioquímica em Felinos Selvages e Domesticos. 2011. Dissertação (Ciencia Animal) – Escola Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goias, Goiania, 2011.

PRESTES, N.C.; ALVARENGA, F.C.L. Obstetrícia Veterinária. (Ed). Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006. 241p



- REED, S.M.; BAYLY, W.M. Medicina Intena Equina. (Ed). Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, p. 490-491, 2000.
- REICHMANN, P.; DEARO, A.C.O. Transfusão de sangue e seus derivados em grandes animais. Semina: Ciênc. Agrár. Londrina., V.22, p. 223-228, 2001.
- RIBEIRO, C.R.; MARTINS, E.A.N.; RIBAS, J.A.S. et al. Avaliação de constituintes séricos em equinos e muares submetidos à prova de resistência de 76km, no Pantanal do Mato Grosso, Brasil. Ciência Rural. V.34, p.081-1086, 2004.
- ROUX, F.A.; SAI, P.; DESCHAMPS, J.Y. Xenotrasfusion, past and presente, Xenotransplation, Oxford, v. 14, p. 208-216, 2007.
- SANTOS, A.A.; MAGALHÃES, P.J.C.; LIMA, R.F.; "Motilidade do Trato Gastrointestinal". In: Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica. São Paulo: Blucher. p. 411-440 2016.
- SAVAGE, W.J. Transfusion reactions. Hematol. Oncol. Clin. North Am., V.30, p.619-34, 2016.
- SENTSUI, H.; KONO, Y. Complement-mediated hemolysis of horse erythrocytes treated with equine infectious anemia virus. Arch. Virol., V.95, p.53-66, 1987 .
- Short RV . An introduction to mammalian interspecific hybrids. J Hered, v.88, p.355-357, 1997.
- SOUSA, R.S. Avaliação da transfusão sanguínea homóloga em ovinos. 2012. 169f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró\_RN,
- STONE, M.S; COTTER, S.M. Practical guidelines for transfusion therapy. In: KIRK, RW; BONAGURA, JD. Current Veterinary Therapy. Philadelphia: WB Saunders; 1992. p.475 – 485.
- TENNANT, B.C.; CENTER S.A. Hepatic Function. In: Kaneko J.J., Harvey J.W; Bruss M.L. (Eds.), Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Academic Press, San Diego. 2008. 916p.
- TIWARI, A. J.; BALEKAR, N. S.; JAIN, D. K. Blood Group Systems and Blood Transfusion of Animals. International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research v. 1,n. 2, p. 50-54, 2009.
- TOCCI, L.J. Transfusion medicine in small animal practice. Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract., V.40, p.485–494, 2010.
- TOMLINSON, J.E.; TABERNER, E.; BOSTON, R.C. et al. Survival Time of Cross-Match Incompatible Red Blood Cells in Adult Horses. J. Vet. Intern. Med., V. 29, p. 1683-1688, 2015.
- YAGY, K.; HOLOWAYCHUK, M.K. Recipient Monitoring. Manual of Veterinary Transfusion Medicine and Blood Banking, First Edition. Edited by Kenichiro Yagi and Marie K. Holowaychuk.© 2016 .