

Estudio comparativo de la variación genética del grupo sanguíneo canino D.E.A 1.2 por aglutinación con Id-Mycrotyping System E Inmuncromatografía

Cano-Rábano MJ.¹; Perlado Chamizo M.R.²; Viñals Flórez L.M.³; Peña Cadahia C.⁴

¹ Profesor Titular del Departamento de Medicina, Cirugía y Anatomía Veterinaria; Facultad de Veterinaria; Hospital Clínico Veterinario Universidad de León. ² Laboratorio de Análisis Clínico del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Alfonso X el Sabio; Avda. de la Universidad; 28691 Villanueva de la Cañada Madrid. ³ Centro de Transfusión Veterinario; C/ Arturo Soria 267; 28033 Madrid; 659 41 14 98; ctveterinaria@yahoo.es. ⁴ Baytar Vet Veterinaria

Objetivos del trabajo

Estudios de los grupos sanguíneo D.E.A 1.1, 1.2 y 1.3 por citometría de flujo a principios del año 2014¹ han demostrado que estos son una variación genética pasando a denominarse este grupo D.E.A.1. En estudios previos² se determinó que un 20% de los perros estudiados eran positivos a esta variante genética. En este estudio se realiza una comparación de los 2 métodos comerciales utilizados en la clínica veterinaria (aglutinación e inmuncromatografía) ante la posibilidad de que puedan producirse reacciones transfusionales por parte de los donantes de sangre

Material y métodos

Se analizaron 380 muestras de sangre de 14 razas caninas españolas³: Alano Español (1 macho), Bodeguero Andaluz (4 machos), Dogo Canario (2 machos), Galgo Español (321, 199 hembras y 122 machos), Gos d'atura (Pastor Catalán) (1 macho), Maneto (3 machos), Mastín del Pirineo (1 hembra), Mastín Español (7, 3 hembras 4 machos), Pachón Navarro (1 macho), Perro de Aguas del Cantábrico (17, 7 hembras y 10 machos), Perro de Aguas Español (5, 2 machos, 3 hembras) y Podenco andaluz talla chica (13, 1 hembra 12 machos), talla media (3 machos), talla grande (1 macho), con edades comprendidas entre 1 y 10 años. Se obtuvieron por venopunción de la vena yugular 5 mL de sangre y se depositaron en tubos con EDTA. Se realizaron prueba de autoaglutinación a todas las muestras (10 µL de sangre entera con 50 µL de solución salina fisiológica mezcladas sobre un portaobjetos). Las muestras fueron centrifugadas a 3.500 r.p.m. durante 10 minutos. Del precipitado del tubo (eritrocitos) se tomó una muestra de 10 µL que fue diluida en 90 µL de una solución de Liss (ID-Diluent 2 Diamed®). De la dilución resultante, se tomaron 3 muestras de 10 µL cada una y se depositaron en 3 pocillos de la tarjeta de salina de gel (NaCl, enzyme test and cold agglutinins Diamed®) para ID-Micro Typing System. Al primer pocillo se añadieron y mezclaron 10 µL del anticuerpo anti D.E.A. 1.2 (KABB Korea animal Blood Bank), en el segundo se añadió anticuerpo con control positivo (DMS Laboratories, Inc) y en el tercero no se añadió nada actuando como control negativo. Las tarjetas salinas fueron incubadas a 37 °C durante 15 minutos y

se centrifugaron a 1.050 r.p.m. durante 10 minutos. Se procedió a la lectura de cada pocillo otorgando valores de 0 a +4. Las pruebas de inmuncromatografía se determino con tiras Lab-Test D.E.A 1.1 (Alvedia) según indicación del fabricante.

Resultados

Todas las pruebas fueron negativas a la autoaglutinación en portaobjetos. Las lecturas de la prueba de ID-Micro Typing System fueron: D.E.A. 1.2 NEGATIVO 371/380(97,63%).y POSITIVO 9/380 (2,37%). El grado de aglutinación en todas las pruebas negativas fue de 0 y +4 en las positivas. De las 9 pruebas positivas se realizo inmuncromatografía frente al Anticuerpo D.E.A. 1.1 obteniendo diferentes resultados 2 de ellas dieron una fuerte positividad 6 de ellas el positivo fue débil y una dio negativo. De las pruebas negativas se realizo análisis a 40/371 (10,78 %) elegidas al azar dando todas ellas resultado negativo

Discusión

El elevado porcentaje de muestras negativas a la variante genética D.E.A. 1.2 (97,63%) determina la baja influencia de esta, en posibles reacciones transfusionales. La técnica de inmuncromatografía se revela como un buen sistema de tipificación de grupo sanguíneo D.E.A. 1 al presentar una positividad débil frente a la variante D.E.A.1.

Conclusiones

Siempre consideraremos positivos todos los análisis de inmuncromatografía del grupo sanguíneo D.E.A. 1 de la marca Alvedia (Quick test o Lab test) sin importar el grado de intensidad de la misma al no poder diferenciar que variante genética (D.E.A. 1.1 ó 1.2) del grupo sanguíneo es.

Bibliografía

1. Aciero M.M. Raj K, Giger U. D.E.A. 1 Expression on Dog Erythrocytes Analyzed by chromatographic and Flow Cytometric Techniques. J Vet Intern Med 2014; 28:592-598
2. Giger U, Stieger K, Palos H: Comparison of various canine blood-typing method.AJVR. 2005, 66 (8): 1386-1392
3. Cano-Rábano MJ. Perlado Chamizo MRViñals Flórez LM. Peña Cadahia C. Determinación de los grupo sanguíneo dog erythrocyte antigen (D.E.A.) 1.1 y 1.2 en galgo español. I congreso murciano sobre nuevas tecnologías en clínicas de animales de compañía