

in caso di...

Variazione dei parametri clinici ed ematici in cani sottoposti a trasfusione di sangue intero e concentrato di eritrociti

Proverbio Daniela¹, Perego Roberta¹, Sambugaro Beatrice¹, Viñals Flórez Luis Miguel², Spada Eva¹

¹ Laboratorio di Medicina Emotrasfusionale Veterinaria (REV), Dipartimento di Medicina Veterinaria (DiMeVet) – Università degli Studi di Milano, Italia

² Centro de Transfusión Veterinario (CTV), Arturo Soria, 267 - 28033 Madrid, Spagna

SUMMARY

Clinical and clinicopathologic variables in dogs receiving whole blood (WB) and packed red blood cells (pRBCs) transfusions - titolo

The aim of this retrospective study is to evaluate the effect of whole blood (WB) and packed red blood cells (pRBCs) administration on specific blood parameters and to describe changes in clinical signs during transfusion in dogs. Medical records of 19 canine patients receiving WB and pRBCs transfusion were analyzed. Only animals with complete monitoring of clinical signs during transfusion were included in the study. The information collected included: signalment, indications for transfusion, volume administered, duration of transfusion, pre- and post-transfusion CBC, vital signs during transfusion (rectal temperature, heart rate, respiratory rate, systolic, mean, diastolic blood pressure, attitude, mucous membranes and refill time), transfusion reactions and outcome. Twelve pRBCs transfusions and 7 WB transfusions were administered to dogs. Six transfusion reactions occurred in the dogs. HCT, hemoglobin and RBC increased significantly after WB and pRBCs transfusions but pRBCs was more effective in increasing HTC than WB. Main statistical changes in vital signs concerned: decrease in heart rate (HR) from the beginning until the end of transfusion, increase of pressure and modification of mucous membranes between the beginning and the end of transfusion. No significant differences were reported between the group of dogs that developed transfusion reactions and the group that did not develop. The results of our study show that both pRBCs and WB are able to increase HCT and RBC and hemoglobin concentration after transfusion. Heart rate and blood pressure were the parameters that had the greatest changes during transfusion.

KEY WORDS

Canine blood type, whole blood, packed red cells, blood transfusion, transfusion reaction

INTRODUZIONE

La medicina trasfusionale, ambito rilevante della medicina umana, sta acquisendo rapidamente importanza anche nella medicina veterinaria come supporto al trattamento di diverse patologie (Weingart et al., 2004). La costituzione di banche di sangue, la realizzazione di un programma donatori di specie canina, la standardizzazione delle metodiche di raccolta, di conservazione e somministrazione del prodotto ematico hanno permesso di ottimizzare i benefici della trasfusione e di limitare i rischi connessi con la pratica trasfusionale. (Kisielewicz e Self, 2014). Malgrado ciò, la terapia trasfusionale è sempre potenzialmente correlata alla trasmissione di agenti patogeni (Wardrop et al., 2005) e allo sviluppo di reazioni trasfusionali che possono anche determinare la morte del paziente (Lanevski e Wardrop, 2001). E' quindi fondamentale valutare sempre rischi e benefici della terapia trasfusionale che deve essere effettuata solo in mancanza di possibili cure alternative. Quando si pratica la terapia trasfusionale occorre utilizzare solo prodotti provenienti da donatori sani e testati e risultati negativi per la presenza di patogeni trasmissibili per via ematica, e prima della trasfusione deve sempre essere valutata la compatibilità tra donatore e ricevente attraverso la tipizzazione del gruppo sanguigno e, in particolare nei soggetti politrasfusi, effettuando anche le prove di compatibilità crociata (Major e Minor). Il paziente deve essere sempre monitorato durante tutto il corso

della trasfusione per identificare ed eventualmente trattare in maniera tempestiva le possibili reazioni avverse acute (Chiaromonte, 2004).

Esistono diversi studi in letteratura riguardanti l'efficacia delle trasfusioni in cani: essi si basano sulla valutazione dei parametri ematici pre- e post-trasfusione, sullo studio delle reazioni trasfusionali e sulla valutazione dell'outcome (Ognean et al., 2015; Roux et al., 2008; Klaser et al., 2005; Weingart et al., 2004; Castellanos et al., 2004; Jutkowitz et al., 2002). Vi sono invece pochi studi che descrivono l'andamento dei parametri vitali e clinici nel corso della trasfusione che nella maggior parte sono registrati solo prima e dopo la trasfusione (Godinho-Cunha et al., 2011; Kisielewicz et al., 2014; Hurcombe et al., 2007). Lo scopo di questo studio retrospettivo è stato quello di valutare l'efficacia della trasfusione di sangue intero e concentrato di eritrociti nel cane tramite la valutazione dei parametri ematici pre- e post trasfusione, e il monitoraggio dei parametri vitali durante la somministrazione della terapia trasfusionale.

MATERIALI E METODI

Sono state revisionate le cartelle cliniche di cani sottoposti a trasfusione ematica da gennaio 2012 a luglio 2015. Sono stati inclusi nello studio i casi di trasfusione di sangue intero (WB) e concentrato di eritrociti (pRBCs) in cui fossero state

REAZIONI TRASFUSIONALI	IMMUNOMEDIATE	NON IMMUNOMEDIATE
ACUTE (durante o entro poche ore dalla trasfusione)	<ul style="list-style-type: none"> • Emolisi (reazione Ag/Ac verso RBC) • Reazione allergica/anafilassi (reazione alle proteine del plasma) • Reazione febbrile >1°C (per reazione contro WBC e PLT donatore) 	<ul style="list-style-type: none"> • Sovraccarico circolatorio • Ipotermia • Shock endotossico (per contaminazione batterica) • Tossicità da citrato
RITARDATE (fino a 7-14 giorni dalla trasfusione)	<ul style="list-style-type: none"> • Emolisi ritardata (sviluppo anticorpi 3-14 giorni dopo la trasfusione che distruggono RBC trasfusi) • Trombocitopenia (sviluppo anticorpi contro le piastrine in 1-2 settimane) 	<ul style="list-style-type: none"> • Danni a RBC per inappropriata conservazione o somministrazione • Inoculazione agenti infettivi trasmissibili per via ematica

Tabella 1. Classificazione delle principali reazioni trasfusionali (da Abrams-Ogg, 2000).

Parametri vitali	Misurazione
Temperatura	Termometro digitale per via rettale
Frequenza cardiaca (HR)	Auscultazione cardiaca e misurazione del numero di pulsazioni al minuto a livello di arteria femorale
Frequenza respiratoria (RR)	Misurazione del numero di movimenti della cassa toracica al minuto
Pressione sistolica	Sistema non invasivo oscillometrico con cuffia posta a livello di coda (High-definition oscillometry, Memo Diagnostic, S+B medVET)
Pressione media	
Pressione diastolica	
Stato del sensorio	Valutazione in base ai seguenti punteggi clinici: <ul style="list-style-type: none"> • Eccitato=1 • Vigile=2 • Vigile/depresso=3 • Depresso=4 • Stato stuporoso=5 • Stato comatoso=6
Colore delle mucose esplorabili	Valutazione in base ai seguenti punteggi clinici: <ul style="list-style-type: none"> • Rosee=1 • Pallide=2 • Porcellanacee=3 • Pallido/itteriche=4
Tempo di riempimento capillare (TRC)	Valutazione in base ai seguenti punteggi clinici: <ul style="list-style-type: none"> • 1-2 sec=1 • >2 sec=2

Tabella 2. Valutazione dei parametri vitali analizzati nei cani sottoposti a trasfusione ematica con WB o pRBCs

effettuate la prova di compatibilità major e minor prima della trasfusione, indipendentemente dal fatto che i pazienti fossero politrasfusi o no, e per i quali fosse disponibile una cartella di monitoraggio trasfusionale compilata nella sua interezza e fosse noto l'outcome a una settimana.

I prodotti da trasfondere sono stati ottenuti nella banca del sangue del Dipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare (VESPA), Reparto di Medicina Emotrasfusionale Veterinario (REV) e nel Centro de Transfusión Veterinario (CTV) (Arturo Soria,

267; 28033 Madrid, Spain), attraverso un programma di donazione volontaria. Tutti i donatori dei suddetti centri sono stati testati nei confronti dei patogeni trasmissibili per via ematica, secondo le indicazioni della "Linea Guida relativa all'esercizio delle attività sanitarie riguardanti la medicina trasfusionale in campo veterinario", pubblicata nel 2007 dal Ministero della Salute. In particolare tutti i donatori sono stati testati e sono risultati negativi per *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, *Babesia* spp, *Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp e *Dirofilaria immitis*. La tipizzazione del gruppo sanguigno

è stata effettuata mediante metodo immunocromatografico (Alvedia blood typing labtest, Alice Veterinary Diagnostic, Limonest, France) e la valutazione della compatibilità tra donatore e ricevente è stata valutata tramite cross-matching su vetrino con prova major e minor. Prima della trasfusione il proprietario del cane ha firmato un consenso informato circa i rischi che tale pratica comporta.

Per ogni caso clinico incluso nello studio sono stati registrati i seguenti dati: segnalamento (razza, sesso, età, peso corporeo, gruppo sanguigno), motivo della trasfusione,

prodotto ematico somministrato (WB o pRBCs), volume somministrato, numero di trasfusioni ricevute, insorgenza di reazioni trasfusionali acute o ritardate (Tabella 1), durata della trasfusione e outcome a una settimana (vivo, morto spontaneamente o sottoposto ad eutanasia).

I parametri ematici pre- e post-trasfusione valutati e analizzati sono stati i seguenti: WBC (cell/ μ l), RBC (cell $\times 10^3/\mu$ l), Hb (g/dl), Ht (%), MCV (fL), MCH (pg), MCHC (g/dl), RDW (%), PLT (cell $\times 10^3/\mu$ l). Per il monitoraggio durante la trasfusione è stato seguito un protocollo che prevede la

Numero caso	Gruppo sanguigno	Patologia	Prodotto trasfuso	Reazioni trasfusionali	Outcome a 1 settimana
1	DEA 1 +	anemia da perdita cronica per liposarcoma non operabile	pRBCs	NO	Vivo
	DEA 1+	anemia da perdita cronica per liposarcoma non operabile	pRBCs	SI (acuta, di natura emolitica)	Vivo
2	DEA 1-	Anemia per sospetta babesiosi	pRBCs	SI (acuta, di natura emolitica)	Morte spontanea a 1 settimana
3	DEA 1 +	sospetta IMHA autoimmune	pRBCs	NO	Vivo
4	DEA 1-	Anemia per ehrlichiosi	pRBCs	NO	Vivo
5	DEA 1+	Piastrinopenia per ehrlichiosi	FWB	SI (acuta, principio di anafilassi)	Vivo
6	DEA 1-	piastrinopenia post chemioterapia (per leucemia cronica)	FWB	NO	Vivo
7	DEA 1-	Anemia in corso di ipotiroidismo	pRBCs	SI (nausea)	Vivo
8	DEA 1+	Pancitopenia (causa da definire)	pRBCs	NO	Vivo
9	DEA 1+	anemia da perdita cronica (neoplasia enterica)	pRBCs	NO	Eutanasia il giorno dopo
10	DEA 1-	Anemia per IRC	pRBCs	NO	Vivo
11	DEA 1-	Pancitopenia (causa da definire)	FWB	NO	Vivo
12	DEA 1-	IMHA	pRBCs	NO	Vivo
13	DEA 1-	IMHA autoimmune	FWB	NO	Vivo
	DEA 1-	IMHA autoimmune	pRBCs	NO	Vivo
14	DEA 1+	Anemia per IRC	pRBCs	SI (ipertermia)	Vivo
15	DEA 1+	Piastrinopenia autoimmune	FWB	SI (nausea)	Morte spontanea 3 giorni dopo
16	DEA 1+	Anemia per causa da definire	WB	NO	Morte spontanea 2 giorni dopo
17	DEA 1+	Anemia e piastrinopenia in soggetto in chemioterapia per Linfoma	FWB	NO	Morte spontanea 4 giorni dopo

Tabella 3. Valutazione dei parametri vitali analizzati nei cani sottoposti a trasfusione ematica con WB o pRBCs

misurazione dei principali parametri vitali (Tabella 2). Tutti i parametri sono stati valutati all'inizio della trasfusione (T0), dopo 15 minuti (T1), a metà trasfusione (T2), a tre quarti della trasfusione (T3) e alla fine (T4).

I cani sono stati divisi in due gruppi: A, gruppo ricevente WB e B, gruppo ricevente pRBCs. L'andamento dei parametri vitali nei cani è stato analizzato inizialmente considerando tutti i cani appartenenti al gruppo A e B e successivamente considerando i cani che hanno sviluppato una reazione trasfusionale (R) e cani che non hanno sviluppato reazione trasfusionale (NOR).

ANALISI STATISTICA

L'analisi statistica dei dati è stata realizzata utilizzando il software MedCalc versione 14.8.1 per Windows. La normalità della distribuzione dei dati è stata valutata tramite test di Kolmogorov Smirnov: i dati distribuiti normalmente sono stati espressi tramite $media \pm DS$ e quelli non normalmente distribuiti tramite mediana e percentili (a 25% e 75%). I parametri ematici pre- e post-trasfusione sono stati confrontati tramite T test per campioni appaiati o Test di Wilcoxon (quando la distribuzione non era normale). Il confronto tra i risultati dei parametri vitali è stato realizzato tramite T test per campioni appaiati e Test di Wilcoxon a seconda della distribuzione dei dati.

Per confrontare i parametri vitali tra cani che hanno sviluppato reazioni trasfusionali e cani che non le hanno sviluppate sono stati utilizzati T Test per campioni indipendenti (per campioni distribuiti normalmente) e Test di Mann Whitney (per campioni non distribuiti normalmente). In tutti i confronti, valori di $P < 0,05$ sono stati considerati statisticamente significativi.

RISULTATI

Diciassette cani su 30 cartelle nei quali sono state esaminate, hanno rispettato i criteri di inclusione: 7 femmine (41,2%) di cui 5 sterilizzate (29,4%) e 2 intere (11,8%), 10 maschi (58,8%) di cui 2 castrati (11,8%) e 8 interi (47%). In totale sono stati analizzati i dati di 19 trasfusioni, in quanto 2 (11,8%) dei soggetti inclusi sono stati trasfusi 2 volte. L'età dei soggetti era compresa tra 1 e 13 anni (media $8,9 \text{ aa} \pm 3,2 \text{ DS}$), mediana 10 aa (percentile al 25% = 7,25 aa; percentile al 75% = 10,75 aa). Il peso era compreso tra 7,5 e 39 kg (media $19,5 \text{ kg} \pm 9,5 \text{ DS}$), mediana 15 kg (percentile al 25% = 11,125 kg; percentile al 75% = 27,375 kg). Le razze presenti nella popolazione in studio erano: 7 Meticci (41%) (di cui 2 Meticci incrocio Shitzu), 2 Beagle (11,5%), 2 Labrador (11,5%), 1 Bovaro del Bernese (6%), 1 Cocker Spaniel (6%), 1 Pittbull (6%), 1 Setter Irlandese (6%), 1 Schnauzer (6%), 1 Yorkshire Terrier (6%). Nove soggetti su 17 (53%) avevano gruppo sanguigno DEA 1 positivo e 8 soggetti (47%) DEA 1 negativo. Nella tabella 3 sono schematizzati i dati relativi al gruppo sanguigno dei soggetti, alle alterazioni cliniche che hanno portato alla decisione di trasfondere, al prodotto ematico somministrato, alle reazioni trasfusionali verificatesi e all'outcome.

Sono state realizzate 12 trasfusioni di pRBCs (63%) e 7 di WB (37%). Dalla tabella 3 si evidenzia anche come il pRBCs sia stato utilizzato principalmente in corso di anemia mentre il WB, in particolare Fresh Whole Blood (FWB), in corso di piastrinopenia.

La media di ml/kg di pRBCs somministrati è risultata pari a 13 ($\pm 7,5 \text{ DS}$), la media di ml/kg di WB era di 17,5 ($\pm 8,9 \text{ DS}$): mediamente il volume di WB somministrato è risultato

	WBC	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Pre-trasfusione	17202,3	2212,8	5,9	13,5	57,8	28,5	50,3	16,5	151,2
Post-trasfusione	16896,2	3537,1	8,9	22,2	60,2	25,7	41,9	16,3	209,9
P	0,3755	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,323	0,098	0,014	0,43	0,489
Variazione	-1,78%	59,8%	50,8%	64,4%	4,15%	-9,8%	-16,7%	-1,2%	38,8%

Tabella 4. Media, valori di significatività (P) e incremento medio in %, dei parametri ematici pre e post-trasfusione sul totale delle 19 trasfusioni

	WBC	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Pre-trasfusione	20637,7	1633,6	4,8	10,3	56,3	31,9	57,7	16,6	217,4
Post-trasfusione	20765	3154,5	8,5	20,5	60,1	27,5	44,6	17	308,8
P	0,9407	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1230	0,2402	0,0216	0,465	0,82
Variazione	0,62%	93,1%	77,0%	99,0%	6,7%	-13,8%	-22,7%	2, %	42%

Tabella 5. Media dei parametri ematici pre e post-trasfusione in cani trasfusi con pRBCs, valori di significatività (P) e incremento medio in %.

	WBC	RBC	Hb	Ht	MCV	MCH	MCHC	RDW	PLT
Pre-trasfusione	11803,7	3122,8	7,4	18,9	60,2	23,2	38,7	16,1	47,2
Post-trasfusione	9803,3	4238,3	9,5	25,5	60,4	22,3	36,9	15	61,6
P	0,1293	0,0083	0,0108	0,0313	0,793	0,144	0,036	0,844	0,34
Variazione	-16,95%	35,7%	28,38%	34,9%	0,33%	-3,88%	-4,65%	-6,8%	30,5%

Tabella 6. Media dei parametri ematici pre e post-trasfusione in cani trasfusi con WB, valori di significatività (P) e incremento medio in %.

	T0	T1	T2	T3	T4
Temperatura (°C)	38,4	38,4	38,3	38,4	38,5
HR (bpm)	127	111	116	112	111
RR (rpm)	59	57	46	53	45
Pressione sistolica (mmHg)	142	149	147	150	145
Pressione media (mmHg)	100	106	105	109	107
Pressione diastolica (mmHg)	78	83	82	86	85
Stato sensorio (punteggio da tabella 2)	2,84	2,79	2,58	2,56	2,47
Colore mucose (punteggio da tabella 2)	2,37	2,21	2,05	1,78	1,81
TRC (punteggio tabella2)	1,17	1,16	1,05	1,06	1,06

Tabella 7. Valori medi dei parametri vitali nei 19 cani sottoposti a trasfusione ematica.

più elevato rispetto a quello di pRBCs, ma non in maniera statisticamente significativa ($P=0,2554$). La durata media della trasfusione è stata di 126 min ($\pm 34,7$ DS) per il pRBCs e di 131 min ($\pm 28,5$ DS) per il WB: la differenza durata della trasfusione non è risultata statisticamente significativa ($P=0,7430$). Nessun cane è stato sottoposto a sedazione durante la procedura.

Nella tabella 4 sono riportati i valori medi dei parametri ematici pre- e post-trasfusione considerando tutti i 19 casi inclusi. Nelle tabelle 5 e 6 sono stati riportati i valori medi dei parametri ematici pre- e post-trasfusione dopo la somministrazione di pRBCs e WB. Il confronto ha messo in evidenza un aumento statisticamente significativo dei parametri della serie rossa dopo la somministrazione sia di pRBCs sia di WB: RBC ($P<0,0001$), Hb ($P<0,0001$) e Ht ($P<0,0001$) per pRBCs e RBC ($P=0,0083$), Hb ($P=0,0108$), Ht ($P=0,0313$) per WB. I valori medi di RBC, Hb e Ht pre-trasfusione dei pazienti trasfusi con pRBCs sono risultati significativamente inferiori rispetto agli stessi valori pre-trasfusione dei pazienti trasfusi con WB (per RBC $P=0,0025$, per Hb $P=0,0394$, per Ht $P=0,0092$).

Nella tabella 7 sono riportati i parametri vitali di tutti i cani sottoposti a trasfusione (WB, pRBCs) valutati a T0, T1, T2,

T3, T4. La temperatura media da 38,4°C iniziali è scesa a 38,3°C a metà trasfusione (T2) per poi risalire a 38,5°C alla fine (T4). È stato evidenziato un aumento statisticamente significativo della temperatura tra T3-T4 ($P=0,0421$). La frequenza cardiaca è diminuita durante il corso della trasfusione: sono state evidenziate diminuzioni statisticamente significative tra T0-T1 ($P<0,0001$), T0-T2 ($P=0,0105$), T0-T3 ($P=0,0086$), T0-T4 ($P=0,0056$), T2-T4 ($P=0,0105$). La pressione arteriosa durante il corso della trasfusione è aumentata ed in particolare c'è stato un aumento statisticamente significativo della pressione media tra T0-T3 ($P=0,0077$), T0-T4 ($P=0,0049$), T2-T4 ($P=0,0371$) e della pressione diastolica tra T0-T3 ($P=0,0001$), T0-T4 ($P=0,0015$), T2-T4 ($P=0,0117$). Lo stato del sensorio è migliorato col procedere della trasfusione e anche il colore delle mucose; in particolare per quest'ultimo sono state rilevate differenze statisticamente significative tra T0-T3 ($P=0,0078$), T0-T4 ($P=0,0156$), T1-T3 ($P=0,0313$), T1-T4 ($P=0,0313$). Nel grafico 1 è riportato l'andamento della frequenza cardiaca media, nel grafico 2 l'andamento medio della pressione arteriosa media.

Sul totale delle trasfusioni si sono verificate 6 reazioni trasfusionali (31,6%), nessuna mortale. Delle 6 /19 reazioni trasfusionali riscontrate nel cane 3 sono risultate di lieve

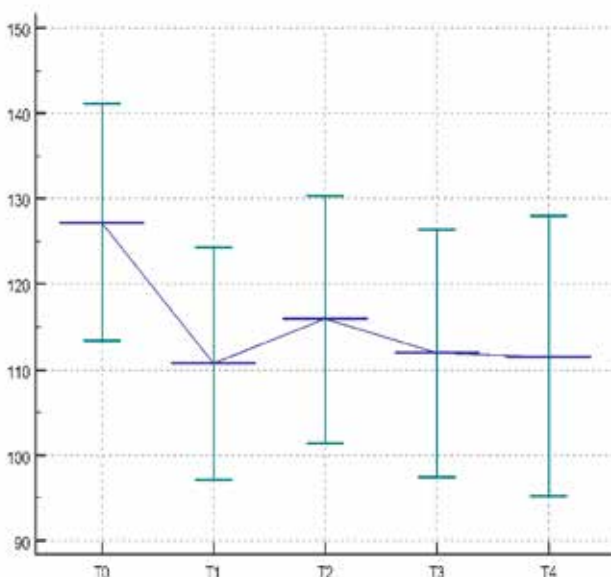


Grafico 1. Andamento della frequenza cardiaca media nei 19 cani sottoposti a trasfusione ematica (unità di misura asse y: bpm).

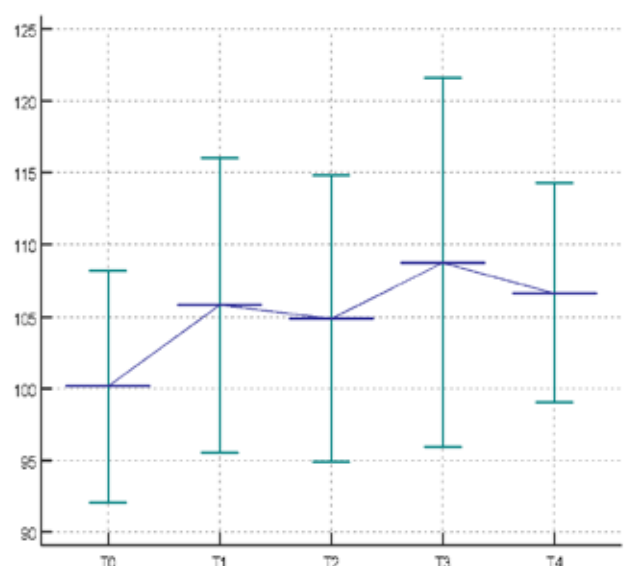


Grafico 2. Andamento della pressione media nei 19 cani sottoposti a trasfusione ematica (unità di misura asse y: mmHg).

entità, 3 di grave entità ma nessuna è risultata mortale. Le uniche 2 reazioni emolitiche verificatesi sono avvenute ad 1 ora e mezza ed a 15 ore dal termine della trasfusione; una di queste reazioni emolitiche è avvenuta in un soggetto precedentemente sensibilizzato. I dati relativi alle reazioni trasfusionali sono riassunti nella tabella 8. Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative per nessun parametro vitale tra i cani andati incontro a reazione (R) e i cani non andati incontro a reazione (NOR), probabilmente anche a causa dell'esiguità del campione analizzato. Nei cani che hanno sviluppato una reazione trasfusionale la temperatura si è mantenuta mediamente più bassa, la frequenza cardiaca e respiratoria mediamente più elevata e il sensorio mediamente più depresso. La pressione sembra essere il parametro più significativo da considerare in quanto non solo si è mantenuta più elevata nei pazienti che hanno sviluppato reazione ma spesso ha superato il limite superiore di normalità (Tabella 9).

Per quanto riguarda l'outcome ad 1 settimana, sul totale delle 19 trasfusioni, 14 soggetti (74%) erano ancora vivi, mentre 5 (26%) non erano sopravvissuti (4 morti spontanee ed 1 eutanasia) (Tabella 3).

DISCUSSIONE

L'applicazione della terapia trasfusionale nel nostro campione si è mostrata efficace nel correggere l'anemia aderendo alla principale indicazione di questo presidio terapeutico. Pure essendo state effettuate tutte le corrette procedure di compatibilità la pratica non si è mostrata scevra da effetti collaterali.

I valori medi di Ht (13,5%), di Hb (5,9 g/dl) e di RBC ($2212,8 \times 10^3/\mu\text{l}$) unitamente alla sintomatologia clinica dei pazienti del nostro studio hanno giustificato l'impiego della terapia trasfusionale che quindi è stata impiegata principalmente nel trattamento delle forme di anemia. Le patologie più frequenti per le quali è stata richiesta la trasfusione emati-

ca sono state Anemia Emolitica Immunomediata (IMHA) e neoplasie per il pRBCs e piastrinopenia per il WB. I valori medi di RBC, Hb ed Ht che hanno definito i triggers trasfusionali nella nostra casistica sono stati di $1633,6 \times 10^3/\mu\text{l}$ (RBC), 4,8 g/dl (Hb) e 10,3% (Ht) per il pRBCs mentre sono stati di $3122,8 \times 10^3/\mu\text{l}$ (RBC), 7,4 g/dl (Hb), di 18,9% (Ht) e $47,2 \times 10^3/\mu\text{l}$ (PLT) per il WB. Questi dati risultano in linea con le più frequenti raccomandazioni per l'esecuzione della trasfusione con beneficio terapeutico: con Ht < 12% la trasfusione è quasi sempre indicata; con Ht < 20% la decisione va presa in base alla sintomatologia clinica e alla rapidità di insorgenza dell'anemia; in presenza di perdita di sangue acuta/ipercuta può essere consigliabile la trasfusione di sangue anche in cani con Ht > 25%; prima di un intervento chirurgico è preferibile che nel paziente il valore di Ht sia > 25% (Lanevski e Wardrop, 2001). Il test di compatibilità tra sangue del donatore e del ricevente, effettuato mediante cross-matching, in un caso che ha evidenziato una lieve positività sia nella prova minor che major. Si trattava di un soggetto affetto da anemia emolitica autoimmune il cui sangue aveva presentato reazioni di auto-agglutinazione e verosimilmente la positività alla prova di compatibilità crociata era influenzata dalla patologia sottostante. Data la gravità dell'anemia era stato deciso comunque di trasfondere il paziente che non ha presentato reazioni trasfusionali. Come è noto l'esecuzione del cross-matching ha lo scopo di verificare eventuali incompatibilità tra donatore e ricevente non legate al gruppo sanguigno DEA 1, ma il suo risultato negativo non è in grado di escludere completamente una reazione di incompatibilità in vivo. Infatti talvolta gli anticorpi possono essere presenti in quantità insufficiente per poter essere rivelati dal test, ma sufficiente per scatenare una reazione in vivo. Nel campione analizzato si sono verificate 6 reazioni trasfusionali di cui 3 gravi. La percentuale delle reazioni trasfusionali è risultata simile nel gruppo di cani che ha ricevuto pRBCs (33,3%) e WB (42%). La percentuale totale di reazioni trasfusionali è risultata piuttosto elevata

REAZIONI TRASFUSIONALI	Prodotto	Insorgenza	Precedente sensibilizzazione	Caso
Reazione emolitica (emoglobinuria, emolisi intravascolare)	pRBCs	1 h 30 min post trasfusione	SI	1
Reazione emolitica (emoglobinuria, emolisi intravascolare)	pRBCs	15 h post trasfusione	NO	2
Principio di reazione anafilattica (tachicardia, tachipnea, mucose congeste, diarrea, TRC < 1sec)	WB	Durante la trasfusione con interruzione	NO	5
Ipertermia	pRBCs	Durante la trasfusione con interruzione	NO	7
Nausea	pRBCs	Durante la trasfusione senza interruzione	NO	14
Nausea	WB	Durante la trasfusione senza interruzione	NO	15

Tabella 8. Reazioni trasfusionali nei cani sottoposti a trasfusione con sangue intero (WB) o concentrato di eritrociti (pPRBC).

Pressione sistolica (mmHg)	T0	T1	T2	T3	T4
R	157	159	153	164	151
NOR	136	145	144	144	141

Tabella 9. Confronto della Pressione Sistolica (in mmHg) tra cani che hanno sviluppato reazione trasfusionale (R) e cani che non le hanno sviluppate (NOR).

(31,6%) rispetto a quanto riportato da Ognean et al. (2015) che registrava il 13,79% di reazioni trasfusionali in 29 trasfusioni e notevolmente maggiore rispetto a quella riportata Abrams-Ogg, 2000 (3-8%). L'alta percentuale di reazioni da noi segnalata è verosimilmente la conseguenza del fatto che sono state incluse anche reazioni di lieve entità, quali ad esempio la nausea. Un solo soggetto, con cross-matching minor e major negativo, tra quanti hanno presentato reazioni trasfusionali, risultava precedentemente sensibilizzato e ha presentato una reazione di tipo emolitico acuta a conferma del fatto che il cross-matching negativo non fornisce certezza di assenza di reazione trasfusionale. Occorre sottolineare che solo l'antigene DEA 1 viene normalmente testato per la determinazione del gruppo sanguigno, ma anche il DEA 4, DEA 7 (Melzer et al., 2003) o l'antigene Dal (Blais et al., 2007) sono immunogeni e possono determinare lo scatenarsi di reazioni emolitiche acute gravi in un cane precedentemente sensibilizzato. Nei cani sottoposti per la prima volta a trasfusione ematica non sono state frequentemente descritte reazioni trasfusionali acute, ma generalmente si possono verificare reazioni ritardate (Hohenhaus, 2004). Le reazioni trasfusionali possono avere manifestazioni cliniche varie da lievi a gravi, immunomediata e non immunomediata (Chiaromonte, 2004). Nella nostra casistica le reazioni trasfusionali sono state 6 di cui 2 acute immunomediata di natura emolitica verificatesi a trasfusione ormai terminata, una acuta immunomediata di tipo anafilattico con tachipnea, tachicardia, mucose congeste, diarrea e TRC < 1 sec che ha comportato la sospensione della trasfusione, una reazione acuta immunomediata febbrile (incremento della temperatura corporea > 1°C) che ha comportato l'interruzione della trasfusione e due reazioni lievi rappresentate da sola nausea, senza interruzione della trasfusione. Nonostante non siano state riscontrate differenze statisticamente significative tra il gruppo di cani andati incontro a reazione ed il gruppo di cani non andati incontro a reazione, i parametri che durante la trasfusione si sono discostati maggiormente dalla norma nel gruppo di soggetti che ha presentato reazioni trasfusionali sono stati la frequenza cardiaca e la pressione sanguigna. Soprattutto per quanto riguarda quest'ultima si nota come i soggetti andati incontro a reazione trasfusionale abbiano mantenuto pressioni sistoliche più elevate e in alcuni casi anche oltre i limiti di normalità che è di 150 mmHg (IRIS Kidney) (Tabella 9).

La media dei ml/kg di pRBCs somministrata ($13 \pm 7,5$ DS) è simile al valore descritto nello studio di Kisielewicz et al. (2014) in cui risultava di 14,8 ml/kg. La media dei ml/kg di WB somministrata ($17,5 \pm 8,99$ DS) è risultata decisamente più elevata rispetto a quanto riportato da Ognean et al. (2015) in uno studio effettuato su 27 cani (7,5 ml/kg). Il volume medio di WB è risultato più elevato rispetto a quello di pRBCs. Questo dato è riconducibile al fatto che per ottenere lo stesso incremento dell'ematocrito post-trasfusione con WB occorre trasfondere un volume di sangue superiore (circa il doppio) rispetto al pRBCs (Chiaromonte, 2004). Essendo maggiore il volume di WB somministrato, anche la durata della trasfusione è stata mediamente maggiore rispetto al pRBCs, ma in maniera non statisticamente significativa.

In cinque trasfusioni (26,316%) il follow up entro una settimana ha registrato la morte del paziente: il dato è simile a quello di altri studi (22% e 29%) (Godinho-cunha et al., 2011; Waldrop et al., 2003). L'exitus finale era riconducibile alla criticità della condizione clinica: un soggetto anemico e piastrinopenico sottoposto a chemioterapia per linfoma, un soggetto con neoplasia enterica metastatizzante (eutanasia), un soggetto con grave piastrinopenia autoimmune, due soggetti gravemente anemici per i quali la causa di anemia

non era stata identificata.

Per quanto riguarda il confronto tra i valori pre- e post-trasfusione per pRBCs e WB si denota come la somministrazione di entrambi i prodotti nel cane abbia determinato un aumento statisticamente significativo di RBC, Hb e Ht. Il pRBCs è risultato essere però più efficace nell'aumentare questi parametri in quanto le differenze tra i valori pre- e post-trasfusione sono risultate essere maggiormente significative rispetto a quelle ottenute con WB (tabella 5 e 6). Da sottolineare che i pazienti a cui è stato somministrato pRBCs avevano dei valori medi di RBC, Hb, ed Ht significativamente inferiori rispetto a quelli del gruppo a cui è stato somministrato WB. Questa differenza è dovuta al fatto che il WB, in particolare FWB ha trovato nel nostro studio la sua principale indicazione come supporto in corso di piastrinopenia, più che di anemia. Dalla tabella 6 si nota come il valore medio di Piastrine (PLT) pre-trasfusione in cani ricevuti WB o FWB sia risultato molto inferiore rispetto al limite di normalità ($47,2 \times 10^3/\mu\text{l}$ contro $143,3 \times 10^3/\mu\text{l}$). L'incremento post-trasfusione non è risultato però statisticamente significativo, ma come è noto la somministrazione di FWB per la terapia della piastrinopenia rappresenta un trattamento di seconda scelta che viene utilizzato in quando non sono disponibili concentrati o liofilizzati piastrinici ad uso trasfusionale. Questi prodotti sono in grado di innalzare in maniera significativa la concentrazione piastrinica ematica (Callan et al., 2009).

In medicina veterinaria vi sono pochi studi che descrivono l'andamento dei parametri vitali nel corso della trasfusione (Kisielewicz et al., 2014; Godinho-Cunha et al., 2011; Hurcombe et al., 2007). Nel nostro studio la temperatura media si è mantenuta sempre entro i limiti di normalità (38-39°C): il calo del suo valore medio registrato a metà della trasfusione è probabilmente imputabile alla somministrazione di un liquido che, benché scaldato, aveva temperatura inferiore rispetto a quella corporea. Da metà a fine trasfusione la temperatura corporea è invece aumentata, riflettendo la più comune alterazione dei parametri vitali in corso di trasfusione ematica. All'inizio della trasfusione la frequenza cardiaca era elevata (127 bpm) (valore normale 90-110 bpm (Haskins et al., 2005; Ferasin et al., 2010)) sia perché si trattava di una situazione nuova per l'animale, e quindi stressante, sia per la presenza di anemia: verosimilmente per compensare lo scarso apporto di ossigeno ai tessuti in corso di anemia l'organismo risponde attivando il sistema simpatico che determina un incremento della frequenza cardiaca (Carson e Hébert, 2009). Ricevendo globuli rossi ed emoglobina con la trasfusione l'apporto di ossigeno ai tessuti si normalizza e, con esso, anche l'attività cardiaca. Anche la diminuzione della frequenza respiratoria verso il termine della trasfusione era probabilmente legata ad una migliore ossigenazione dei tessuti. Nello studio di Kisielewicz et al. (2014) su 24 cani era descritta una diminuzione statisticamente significativa sia di frequenza cardiaca (HR) che respiratoria (RR). Nel nostro studio è stata rilevata una diminuzione statisticamente significativa di HR ma non di RR. La pressione arteriosa è aumentata col procedere della trasfusione verosimilmente a causa dell'incremento del volume intravascolare. Il colore delle mucose è migliorato in modo statisticamente significativo grazie ad un incremento della linea rossa e della volemia.

Conclusioni

In conclusione, dallo studio della nostra casistica, possiamo affermare che sia pRBCs che WB si sono dimostrati un valido ausilio terapeutico in corso di anemia del cane migliorando i valori di RBC, Ht e Hb. I parametri che maggiormente hanno subito variazioni in corso di trasfusione ematica sono

stati la frequenza cardiaca, la pressione arteriosa e il colore delle mucose esplorabili; l'aumento della pressione arteriosa sembra essere il parametro maggiormente correlato allo sviluppo delle reazioni trasfusionali nel cane. I risultati del nostro studio confermano la necessità di tipizzare il gruppo sanguigno ed eseguire le prove di compatibilità crociata, per ridurre al minimo i rischi della trasfusione. Questi risultati ci portano a sottolineare come sia necessario conoscere rischi e benefici della trasfusione e valutare l'esistenza di

cure alternative; la trasfusione di sangue non rappresenta quasi mai il trattamento definitivo di una patologia ma ha lo scopo di correggere le alterazioni ematologiche del paziente in attesa della diagnosi e degli effetti della terapia eziologica. Inoltre vogliamo sottolineare la necessità del ricovero per almeno 24 ore dopo la terapia trasfusionale in quanto le reazioni trasfusionali possono verificarsi anche a trasfusione ormai terminata.

BIBLIOGRAFIA

1. Abrams-Ogg A. Transfusion Medicine in "Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine". Day M, Mackin A, Littlewood J Eds. 2000, BSAVA, Gloucester (England), 261-309.
2. Blais MC, Berman L, Oakley DA, Giger U. Canine Dal Blood Type: A Red Cell Antigen Lacking in Some Dalmatians. *J Vet Intern Med*, 2007, 21: 281-286.
3. Callan MB, Appleman EH, Sachais BS. Canine platelet transfusions. *J Vet Emerg Crit Care*, 2009, 19(5): 401-415.
4. Carson JL, Hébert P. 2009. Anemia and Red Blood Cell Transfusion. In: Simon TL et al. (Eds), Rossi's principles of transfusion medicine, Oxford: Wiley-Blackwell, p. 131-148.
5. Castellanos I, Couto CG, Gray TL. Clinical Use of Blood Products in Cats: a Retrospective Study (1997-2000). *J Vet Intern Med*, 2004, 18: 529-532.
6. Chiamonte D. Blood-Component Therapy: Selection, Administration and Monitoring. *Clin Tech Small Anim Pract*, 2004, 19(2): 63-67.
7. Ekiz EE, Arslan M, Ozcan M, Gultekin GI, Gulay OY, Kirmizibayrak T, Giger U. Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 in 4 breeds native to different areas in Turkey. *Vet Clin Pathol*, 2011 40(4): 518-523.
8. Ferasin L, Ferasin H, Little CJL. Lack of correlation between canine heart rate and body size in veterinary clinical practice. *J Small Anim Pract*, 2010, 51: 412-418.
9. Ferreira RRF, Gopegui RR, Matos AJF. Frequency of dog erythrocyte antigen 1.1 expression in dogs from Portugal. *Vet Clin Pathol* 2011 40(2): 198-201.
10. Gehrie EA, Hendrickson JE, and Tormey CA. Variation in vital signs resulting from blood component administration in adults. *Transfusion*, 2015, 00: 1-5.
11. Godinho-Cunha LF, Ferreira Rui MRF., Silvestre-Ferreira AC. Whole blood transfusion in small animals: indications and effects. *An Acad Bras Cienc*, 2011, 83(2): 611-617.
12. Haskins S, Pascoe PJ, Ilkiw JE, Fudge J, Hopper K, Aldrich J. Reference Cardiopulmonary Values in Normal Dogs. *Comparative Medicine*, 2005, 55(2): 156-161.
13. Hohenhaus AE. Importance of Blood Groups and Blood Group Antibodies in Companion Animals. *Transfusion Medicine Reviews*, 2004, 18(2): 117-126.
14. Hurcombe S, Mudge MC, Hinchcliff KW. Clinical and clinicopathologic variables in adult horses receiving blood transfusions: 31 cases (1999-2005). *J Am Vet Med Assoc*, 2007, 231(2): 267-274.
15. Jutkowitz LA, Rozanski EA, Moreau JA, Rush JE. Massive transfusion in dogs: 15 cases (1997-2001). *J Am Vet Med Assoc*, 2002, 220(11): 1664-1669.
16. Kisielewicz C, Self I. Canine and feline blood transfusions: controversies and recent advances in administration practices. *Vet Anaesth Analg*, 2014, 41: 233-242.
17. Kisielewicz C, Self I, Bell R. Assessment of Clinical and Laboratory Variables as a Guide to Packed Red Blood Cell Transfusion of Euolemic Anemic Dogs. *J Vet Intern Med*, 2014.
18. Klaser DA, Reine NJ, Hohenhaus AE. Red blood cell transfusions in cats: 126 cases (1999). *J Am Vet Med Assoc*, 2005, 226(6): 920-923.
19. Lanevski A, Wardrop KJ. Principles of transfusion medicine in small animals. *Can Vet J*, 2001, 42: 447-454.
20. Melzer KJ, Wardrop J, Hale AS, Wong VM. A Hemolytic Transfusion Reaction due to DEA 4 Alloantibodies in a Dog. *J Vet Intern Med*, 2003, 17: 931-933.
21. Ognean L, Chiurciu V, Stefanut C, Oana L, Morar I, Barabasi I. Transfusion Triggers and Therapeutic Efficacy in a Group of Dogs That Underwent Whole Blood Therapy. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2015, 6: 363-369.
22. Roux FA, Deschamps J-Y, Blais M-C, Welsh DM, Delafordade-Buress AM, Rozanski EA. Multiple red cell transfusion in 27 cats (2003-2006): indications, complications and outcomes. *J Feline Med Surg*, 2008, 10: 213-218.
23. Waldrop JE, Rozanski EA, Freeman LM, Rush JE. Packed Red Blood Cell Transfusions in Dogs With Gastrointestinal Hemorrhage: 55 Cases (1999-2001). *J Am Anim Hosp Assoc*, 2003, 39: 523-527.
24. Wardrop KJ, Reine N, Birkenheuer A, Hale A, Hohenhaus A, Crawford C, Lappin MR. Canine and Feline Blood Donor Screening for Infectious Disease. *J Vet Intern Med*, 2005, 19: 135-142.
25. Weingart C, Giger U, Kohn B. Whole blood transfusion in 91 cats: a clinical evaluation. *J Feline Med Surg*, 2004, 6: 139-148.
26. www.iris-kidney.com