

LUCAS CAVALCANTE SILVA

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA

Garanhuns

2019

LUCAS CAVALCANTE SILVA

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco como parte de requisitos exigidos para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^a Dr^a Tania Alen Coutinho

Coorientador: MSc Talles Monte de Almeida

Garanhuns

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586a

Silva, Lucas

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA / Lucas Silva. - 2019.
53 f. : il.

Orientadora: Tania Alen Coutinho.

Coorientador: Talles Monte de Almeida.

Inclui referências.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Garanhuns, 2019.

1. Esferócitos. 2. Teste de Coombs. 3. Teste de aglutinação em salina. 4. Corticoideterapia. 5. Hemoterapia. I. Coutinho, Tania Alen, orient. II. Almeida, Talles Monte de, coorient. III. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA

Trabalho de conclusão de curso elaborado por:

LUCAS CAVALCANTE SILVA

Aprovado em 11 de dezembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Médica Veterinária, Prof^a Dr^a Tania Alen Coutinho
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE (Orientadora)

Médico Veterinário, Dr Rinaldo Cavalcanti Ferri
Hospital Veterinário Universitário - Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE (Titular)

Médica Veterinária, Poliana Nunes da Silva
Autônoma (Titular)

Médico Veterinário, MSc. JoséIVALDO Rodrigues da Siqueira Silva Júnior
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/Botucatu (Suplente)

Aos meus pais, Severino e Alzira
e a todos os animais de pessoas carentes,
dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter abençoado e iluminado meu caminho desde sempre e por ter colocado a veterinária em meu caminho, ajudando a encontrar minha função na terra.

Aos meus pais que, mesmo nos dias mais difíceis de lidar comigo, estavam sempre pacientes e querendo ajudar da forma como podiam. Por terem me dado a vida com todo o amor e cuidado que existem neles, pelos incentivos quando eu já não tinha forças para continuar e pelo exemplo de caráter a ser seguido, tratando sempre bem as pessoas, mesmo se nem tudo tivesse bem. Meu maior objetivo é trazer orgulho aos seus corações me formando neste curso.

À Ana Paula, que esteve comigo nos últimos três anos do curso, apoiando-me, acreditando no meu potencial, mostrando que eu posso conseguir realizar meus sonhos e basta ter a coragem de tentar. Por estar comigo também nos momentos ruins, sem me abandonar, além do amor e carinho que sempre teremos um pelo outro. Por ter doado parte do seu tempo e seu notebook, que tanto ajudaram na escrita desse trabalho e por tantas outras coisas que me ajudaram a chegar aqui hoje.

Agradeço imensamente ao meu primo, Jailson, e ao Senhor Paulo Rabelo, por terem ajudado com as passagens para meu Estágio Supervisionado Obrigatório. O fato de terem se preocupado comigo num momento tão especial, fez-me sentir maior admiração pelas pessoas que são. Vou levar comigo as vozes de vocês me incentivando e dizendo: “Aproveite a viagem, adquira conhecimento e estará tudo certo!”.

Agradeço aos meus animais, Kiko e Priscilla, que sempre me receberam com miados ou rabinho balançando, mesmo depois de pelo menos sete horas longe de casa.

Às amigas de turma, Victória, Fernanda e Elizabetty, por sempre solucionarem possíveis dúvidas, pelos estudos juntos e pelo compartilhamento de anotações e resumos. Por estarem comigo nos momentos que desanimei, fazendo-me rir e dando conselhos para a vida.

Às minhas amigas de infância, Maria Luiza e Marianna, que mesmo após tantos anos, ao reencontrá-las senti que nada mudou, podendo contar sempre que necessário em tudo na vida (e vice-versa). Vocês fazem parte da minha história!

Aos amigos de vida, Carlos Lucas, Rayanne e Bianca, por estarem presentes na minha vida antes da graduação e para onde eu corria para contar as coisas mais engraçadas

e sérias, pois tinham os conselhos exatos para me darem. Obrigado pelo apoio, carinho e generosidade imensos de todos.

Citando generosidade, agradeço à Fernanda Feitosa e sua mãe, que me doaram o prêmio da rifa, ajudando-me a arrecadar dinheiro e realizar meu sonho de estagiar no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu. Essa família tem minha eterna gratidão desde os tempos de colégio até hoje.

A todos que compraram minhas rifas em prol de um bem maior, pela amizade e vontade de ajudar ao próximo.

Aos professores que durante a graduação tiveram a paciência e o dom de repassar seus conhecimentos, doando seu tempo pelo prazer de ensinar e não apenas cumprir seu trabalho. Em especial aos professores: Daniela Oliveira, pelo carinho e doçura durante as aulas e no projeto de extensão; Lucilene, por lecionar de formas diferentes do habitual, tornando o assunto mais interessante; Daiane e Cláudio Galvão, pela orientação nos anos de monitoria que passei com vocês; Rute, que ao passar seus conhecimentos sobre patologia clínica fez meus olhos brilharem para área e por ser uma amiga nas aulas de Clínica de Pequenos Animais com participação da minha cadela Priscilla; Ruben, que desde o começo já considerei como um amigo nas aulas e mostrando como é interessante a área de silvestres; e Marcos Franque, pelas mensagens de otimismo e força na reta final do curso quando tudo parecia cansativo.

À minha orientadora, Tania, que mesmo não sendo da área, incentivou-me desde o dia em que nos apresentamos na sala para seguir meu sonho mostrando caminhos possíveis para conseguir realizá-lo e Botucatu foi um deles. Pela paciência em ensinar e preocupação com cada aluno mesmo nem todos percebendo isso.

Ao Dr Talles, por toda paciência, educação e amor em ensinar, deixando-me cada vez mais encantado com a área desde o Programa de Atividade de Vivência Interdisciplinar (PAVI) até este trabalho. É um homem que eu sonho em me tornar e tenho orgulho de ter conhecido em minha graduação.

Aos meus amigos do Laboratório Clínico – FMVZ/ UNESP – Botucatu, que conseguiram superar minhas expectativas quanto à viagem. Obrigado pelo carinho, amizade e cuidado, especialmente à Rose, Thereza, Rossana e Nathiely, que sempre estiveram comigo quando estive longe de casa, dando o suporte emocional quando as coisas estavam difíceis e a rotina cansativa. Guardo no coração e nos presentes suas palavras sinceras. Com vocês eu senti que a bondade, fé e empatia são energias poderosas que devo carregar sempre comigo. Afinal, vai dar certo, não é mesmo?

Ao pessoal do Laboratório Clínico – FMVZ/ UNESP – Botucatu, sempre pacientes e atenciosos, doando seu tempo, da rotina tão corrida, pra passar um pouco do conhecimento para quem tem muito a descobrir nessa área da veterinária. Obrigado, Lívia, pela parceria e ajuda com os dados do caso; Mayumi, por confiar em mim; Marcela, por acreditar no meu potencial, enxergando positivos que nem mesmo conhecia em mim; Rosinha, pela calma e segurança, as quais almejo em ter; Isadora, por me ensinar que organização é a base para trabalhar em um laboratório; Amanda, pela doçura na forma como fala com os outros, até mesmo nas situações difíceis; Adriana, sempre me ajudando além do estágio, mas no caminho e apresentação dele; e a Roberta, com toda a sua sinceridade necessária para também ser pé no chão quando se está vivendo um sonho nas nuvens. E mais importante, à Regina, supervisora tão atenciosa, mesmo com sua rotina tão cheia, não deixava de estar presente de alguma forma nos apoiando.

Aos meus amigos de turma, que ao longo desses cinco anos estiveram nessa luta que é a graduação, mas que com vocês tudo se tornou mais engraçado, leve e suportável, mesmo nas situações de aperto. Isabela, Rafael, Ytaguaci e Alexandre, vocês foram peças-chave nesta longa caminhada.

À Joyce, Andrea e Paloma, pelos abraços vespertinos, com tanto carinho, que nem sei como mereço tanto. Eu fui monitor de vocês, mas com certeza quem mais aprendeu nessa amizade fui eu.

Nem todas as páginas desse trabalho de conclusão de curso caberiam a gratidão e nomes que não estão aqui. Minha maior riqueza e motivo pra continuar seguindo, vem de todo sentimento recíproco entre nós.

Muito Obrigado!

Não existe caminho para a felicidade... A felicidade é o caminho.

Mahatma Gandhi

RESUMO

A anemia hemolítica imunomediada é uma síndrome clínica resultante da destruição acelerada das hemácias por mecanismos imunomediados. Os sinais clínicos associados à esta síndrome são geralmente inespecíficos, como palidez, perda de peso, petéquias, equimoses, linfadenopatia e hepatomegalia, contudo, manifestações relacionadas diretamente à hemólise também podem ser verificadas, as quais incluem esplenomegalia, icterícia e hemoglobinúria ou bilirrubinúria. Tal enfermidade prejudica a oxigenação tecidual trazendo riscos à saúde do paciente. Quanto à definição diagnóstica da anemia hemolítica imunomediada, ainda não se tem teste laboratorial padrão ouro, sendo necessário a junção da clínica apresentada pelo paciente, achados laboratoriais de patologia clínica e testes imunológicos. Para o controle terapêutico é fundamental a utilização de corticoideterapia associada ou não a anticoagulantes, devido ao risco de tromboembolismo nesta enfermidade, bem como, a implementação de terapia suporte transfusional, especialmente a partir de concentrado de hemácias, o qual não interferirá no volume sanguíneo e diminuirá o risco de reações imunológicas. Assim, frente aos prejuízos homeostáticos gerados pela anemia hemolítica imunomediada aos pacientes, bem como, à sua frequente ocorrência na clínica veterinária de pequenos animais, foi objetivo do presente trabalho de conclusão de curso revisar a temática.

Palavras-chave: Esferócitos. Teste de Coombs. Teste de aglutinação em salina. Corticoideterapia. Hemoterapia.

ABSTRACT

Immunomediated hemolytic anemia is a clinical syndrome resulting from the accelerated destruction of red blood cells by immunomediated mechanisms. Clinical signs associated to this syndrome are generally nonspecific, such as paleness, weight loss, petechiae, ecchymoses, lymphadenopathy, and hepatomegaly, however, manifestations related directly to hemolysis can also be verified, which include splenomegaly, jaundice, and hemoglobinuria or bilirubinuria. Such disease impairs tissue oxygenation bringing risks to the patient's health. Regarding to the diagnostic definition of immune-mediated hemolytic anemia, there is no gold standard laboratory test yet, and it is being achieved by the combination of patient clinical presentation, laboratory findings and immunological tests. For the therapeutic control, the use of corticoid therapy associated or not with anticoagulants is essential, due to the risk of thromboembolism in this disturb, as well as the implementation of transfusion support therapy, especially from concentrate of red blood cells, which will not interfere with blood volume, minimizing the risk of immune reactions. Thus, in view of the homeostatic damage generated by immunomediated hemolytic anemia to patient's health, as well as its frequent occurrence in the veterinary clinic of small animals, it was the aim of the present undergraduate thesis to review the theme.

Keywords: Spherocytes. Coombs test. Saline agglutination test. Corticoid therapy. Haemotherapy.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Laboratório de rotina do Laboratório Clínico da FMVZ - UNESP/ Botucatu	20
Figura 2 - Sala de coleta do Banco de Sangue do Laboratório Clínico da FMVZ - UNESP/ Botucatu	21
Figura 3 - Organograma de atividades desempenhadas pelo estagiário no LCV da FMVZ - UNESP/ Botucatu	22
Figura 4 - Quantidade absoluta de exames realizados no LCV da FMVZ - UNESP/ Botucatu, no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019, segundo tipo de análise	24
Figura 5 - Distribuição absoluta de grupos de hemogramas processados no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019	24
Figura 6 - Distribuição absoluta de exames especiais processado no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019	25
Figura 7 - Distribuição absoluta de grupos de derrames cavitários processados no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019	25
Figura 8 - Fachada do Hospital Veterinário Universitário – UFRPE/ UAG	26
Figura 9 - Ambulatório de rotina do Hospital Veterinário Universitário - UFRPE/ UAG	27
Figura 10 - Distribuição absoluta de pacientes atendidos no Hospital Veterinário Universitário da UFRPE/ UAG no período de 14 de outubro a 14 de novembro de 2019	28
Figura 11 - Estágios celulares de maturação eritrocitária na espécie canina	32

Figura 12 -	Morfologia de reticulócitos de felinos em coloração novo azul de metileno	33
Figura 13 -	Alterações morfológicas de hemácias	34
Figura 14 -	Alterações de formato de eritrócitos	37
Figura 15 -	Inclusões intraeritrocitárias	38
Figura 16 -	Patogenia da anemia hemolítica imunomediada	42
Figura 17 -	Algoritmo diagnóstico para anemia hemolítica imunomediada	44
Figura 18 -	Requisitos básicos para seleção de doadoras de hemocomponentes	48

LISTA de ABREVIATURAS e SÍMBOLOS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AHIM	Anemia hemolítica imunomediada
BID	<i>Bis in die</i> - duas vezes ao dia
bpm	batimento por minuto
BUF-E	<i>Burst</i> de unidade formadora eritróide
°C	Graus Celsius
CID	Coagulação intravascular disseminada
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
EDTA	Ácido etileno-diamino tetra-acético
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GGT	Gama glutamiltransferase
Ht	Hematócrito
HVU	Hospital Veterinário Universitário
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-3	Interleucina 3
IM	Intramuscular
IV	Intravenosa
Kg	Quilograma
mmHG	Milímetros de mercúrio
%	Porcentagem
PT	Proteínas totais
RDW	<i>Red blood cell distribution width</i>
seg	Segundos
SID	<i>Semel in die</i> - uma vez ao dia
SC	Subcutâneo
SFM	Sistema monocítico fagocitário

TPC	Tempo de preenchimento capilar
TVT	Tumor venéreo transmissível
µg	Micrograma
UAG	Unidade Acadêmica de Garanhuns
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UFC-E	Unidade formadora de colônia eritróide
V10	Vacina polivalente canina contendo antígenos do vírus da cinomose, vírus da parvovirose, vírus da coronavirose, vírus da parainfluenza, vírus da adenovirose (hepatite infecciosa canina e traqueobronquite infecciosa canina), sorovares de <i>Leptospira</i> (Canicola, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Grippotyphosa)
VO	Via oral
VCM	Volume corpuscular médio
VG	Volume globular

SUMÁRIO

	Página
PARTE I – RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO	17
1 INTRODUÇÃO	18
2 LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO – UNESP/ BOTUCATU	19
2.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL	19
2.2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	21
2.2.1 Casuística	23
3 SETOR DE CLÍNICA MÉDICA – HVU/ UAG/ UFRPE	26
3.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL	26
3.2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS	27
3.3 Casuística	28
PARTE II – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA	29
1 INTRODUÇÃO	30
2 REVISÃO DE LITERATURA	31
2.1 ERITROPOIESE	31
2.2 ERITROGRAMA	34
2.3 ANEMIA	38
2.3.1 Sinais clínicos	39
2.3.2 Classificação	39
2.4 ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA	40

2.4.1	Hemoparasitos geradores de anemia hemolítica imunomediada secundária	43
2.4.2	Diagnóstico laboratorial	43
2.4.3	Controle terapêutico	45
2.4.3.1	Terapia de suporte	46
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	49
	REFERÊNCIAS	50

PARTE I

RELATÓRIO DE ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO

1 INTRODUÇÃO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) é realizado como etapa final do curso de medicina veterinária, sendo cursado no último período do referido curso da Unidade Acadêmica de Garanhuns (UAG) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), com carga horária mínima de 405 horas. Neste período o aluno escolhe locais e áreas de interesse, com o objetivo de capacitação na prática profissional, bem como, de aperfeiçoamento de habilidades cognitivas adquiridas ao longo do curso.

O presente estágio foi realizado em duas instituições de ensino superior diferentes e em áreas diferentes, durante o semestre escolar 2019.2 da UFRPE. A primeira parte do ESO foi realizada no período compreendido entre 05 de agosto a 05 de outubro de 2019 no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) do Hospital Veterinário (HV) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP) – Campus de Botucatu, sob supervisão da Profa. Dra. Regina Kiomi Takahira. Enquanto a segunda parte do ESO foi vivenciada entre os dias 14 de outubro e 14 de novembro de 2019 no Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário Universitário (HVU) da UFRPE/ UAG, sob supervisão do Dr. Rinaldo Cavalcante Ferri.

O presente relatório teve o objetivo de descrever as atividades desenvolvidas, bem como, a casuística dos casos acompanhados durante o período de ESO.

2 LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO – UNESP/ BOTUCATU

2.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL

O LCV da UNESP - Botucatu oferece serviços de diagnóstico laboratorial, os quais compreendem desde o hemograma completo, bioquímicos, urinálise, análises de fluidos cavitários e líquor de animais domésticos e silvestres; e conta adicionalmente com um banco de sangue.

O atendimento do HV da FMVZ/ UNESP – Botucatu ocorre todos os dias da semana (incluindo feriados), das 8h00min às 16h00min (com intervalo diário de uma hora para o almoço), contudo, o horário de atendimento diário do LCV é das 08h00min e às 18h00min, (com intervalo diário para almoço entre 12h00min e 14h00min).

As instalações do LCV encontram-se em um dos prédios do HV da FMVZ da UNESP-Botucatu e são distribuídas em laboratório de rotina, laboratório de pesquisa, laboratório didático, banco de sangue, sala de hemostasia, sala de lavagem e secagem de materiais, sala de reuniões/ biblioteca, almoxarifado e salas reservadas aos recursos humanos (sala de residentes, sala de pós-graduandos e salas de professores).

O laboratório clínico de rotina (Figura 1) recebe as amostras biológicas dos demais setores do HV-FMVZ-UNESP-Botucatu, bem como, amostras externas à instituição (exames particulares).

O banco de sangue do laboratório (Figura 2) é devidamente equipado para coleta, acondicionamento e fracionamento em hemocomponentes, os quais são obtidos a partir de cães doadores submetidos a coletas realizadas no próprio banco de sangue do LCV, bem como, em clínicas veterinárias particulares. O sistema de doação funciona por meio de divulgação nas redes sociais, onde os pré-requisitos para o animal doador de sangue são compartilhados, visando a busca por animais aptos e tutores que se interessem pelo ato donativo ou ainda, amigos de tutores com animais necessitados de transfusão. Os animais doadores passam por uma triagem de exames e caso estejam hígidos, são submetidos ao processo de coleta da bolsa sanguínea, e ao final ganham bandana, petiscos e uma foto como incentivo a outros tutores doarem igualmente o sangue de seus animais.

Figura 1 – Laboratório de rotina do Laboratório Clínico da FMVZ-UNESP/ Botucatu



A



B

A – bancada de análises hematológicas da sala central e **B** – sala de análises bioquímicas.

Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 2 – Sala de coleta do Banco de Sangue do Laboratório Clínico da FMVZ - UNESP/ Botucatu



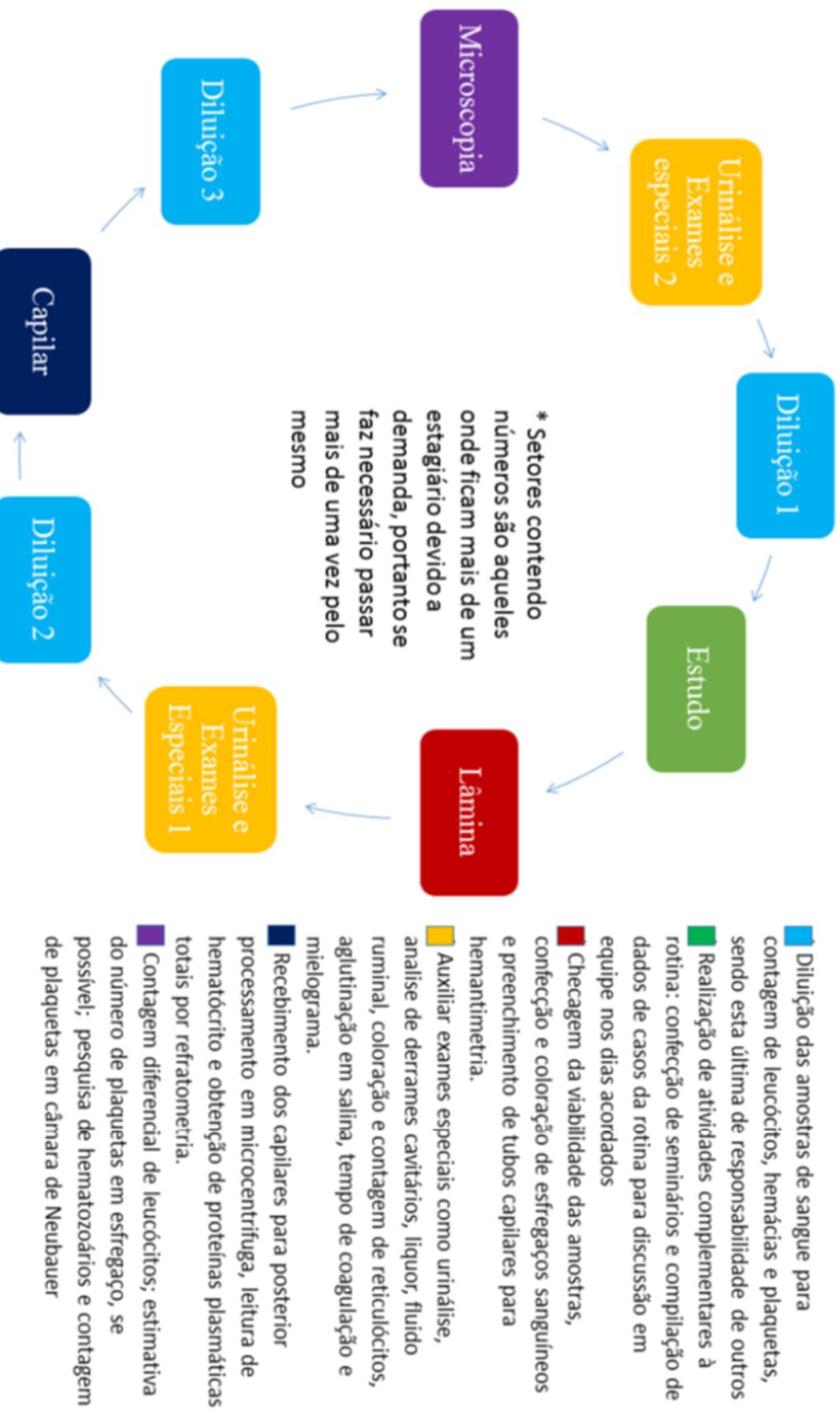
A – mesa de coleta de sangue e **B** – equipamento para processamento de sangue colhido.

Fonte: Arquivo pessoal.

2.2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

No LCV a rotina laboratorial é dividida por setores, nos quais médicos veterinários residentes desempenham função laboratorial via rodízio setorial por semana, enquanto estagiários acompanham as atividades e executam procedimentos de forma supervisionada em cada setor a partir de rodízio diário. As atividades desempenhadas por estagiários do laboratório clínico são setORIZADAS diariamente segundo seis tipos de atividades: 1. Diluição de amostras sanguíneas (para contagem de leucócitos, hemácias e plaquetas), 2. Capilar (processamento para leitura hematócrito e proteínas plasmáticas totais por refratometria), 3. Lâminas (confecção e coloração de esfregaços sanguíneos), 4. Microscopia (leitura de esfregaços sanguíneos), 5. Urinálise e exames especiais e 6. Estudo (Figura 3).

Figura 3 – Organograma de atividades desempenhadas pelo estagiário no LCV da FMVZ - UNESP/ Botucatu



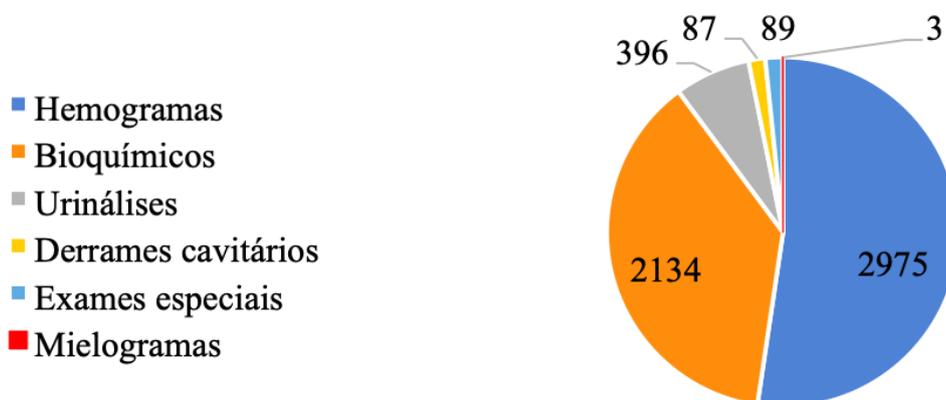
A análise bioquímica de amostras de soro, plasma, ou fluidos corpóreos como urina, líquidos cavitários, líquor e líquido ruminal é feita em aparelho automatizado de química úmida e trata-se de uma atividade de responsabilidade exclusiva dos médicos veterinários. Assim, as análises bioquímicas do LCV não fazem parte da divisão de tarefas da rotina dos residentes e, conseqüentemente, não é acompanhada por estagiários.

O banco de sangue canino é de responsabilidade de um dos residentes durante a semana, cumprindo funções como pesquisa de doadores, cuidados com a sala onde ele está localizado, bem como, coleta e processamento das bolsas. Sob supervisão de residentes, os estagiários auxiliavam na triagem dos animais doadores e posterior observação do sangue total em hemocomponentes (concentrado de hemácias e plasma rico em plaquetas). Na triagem os animais eram acompanhados de seus tutores para coleta de sangue, onde realizava-se o hemograma para avaliar sua aptidão como doador. Após os exames e confirmada a higidez do doador, era feita a coleta da bolsa e ao final da doação o animal ganhava alguns brindes como incentivo para coletas futuras e uma foto para divulgação em redes sociais.

2.2.1 Casuística

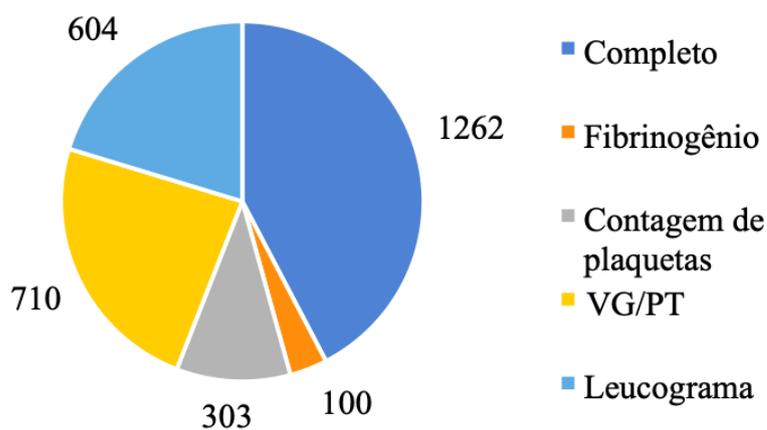
Durante o período compreendido entre os dias 05 de agosto e 05 de outubro de 2019 foram processados 5684 exames laboratoriais (Figura 4), distribuídos entre hemogramas, análises bioquímicas, urinálise, análise de derrames cavitários, micelogramas e exames especiais: aglutinação em salina, análise de líquido ruminal, pesquisa de hematozoários tempo de coagulação e teste de compatibilidade sanguínea (deste, somente 3730 foram acompanhados e/ ou executados durante o período de ESO, visto que os exames bioquímicos não entravam na rotina laboratorial de residentes e estagiários). Adicionalmente, nas Figuras 5, 6 e 7 são apresentados o detalhamento de, respectivamente, grupo de hemograma, exames especiais e grupo de derrames cavitários.

Figura 4 - Quantidade absoluta de exames realizados no LCV da FMVZ - UNESP/ Botucatu, no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019, segundo tipo de análise



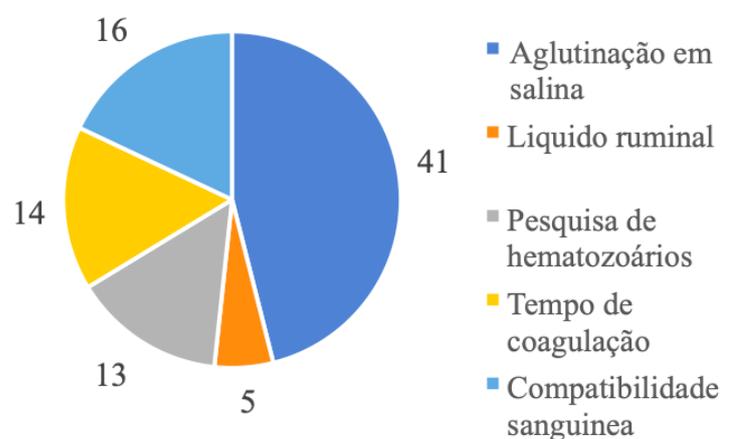
Fonte: O próprio autor.

Figura 5 - Distribuição absoluta de grupos de hemogramas processados no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019



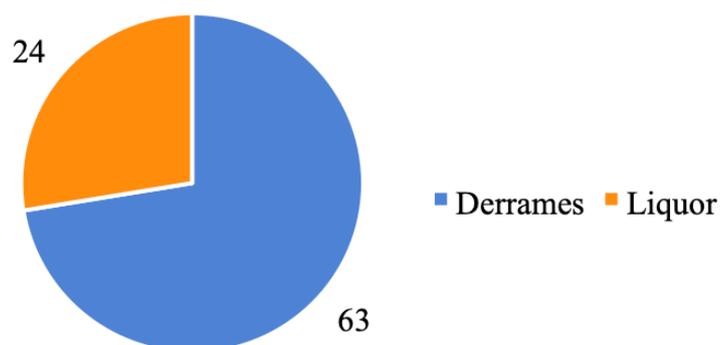
Fonte: O próprio autor.

Figura 6 - Distribuição absoluta de exames especiais processado no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019



Fonte: O próprio autor.

Figura 7 - Distribuição absoluta de grupos de derrames cavitários processados no LCV da FMVZ – UNESP/ Botucatu no período de 05 de agosto a 05 de outubro de 2019



Fonte: O próprio autor.

3 SETOR DE CLÍNICA MÉDICA – HVU/ UAG/ UFRPE

3.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL

O Setor de Clínica médica do HVU da UFRPE / UAG oferece serviços de clínica médica para pequenos animais e ainda serviço de eletrocardiograma como parte dos exames pré-cirúrgicos e nos casos de cardiopatias já diagnosticadas.

O atendimento do HVU da UFRPE/ UAG ocorre de segunda-feira a sexta-feira, das 8h00min às 16h00min (com intervalo diário de uma hora para o almoço), sendo reservados oito atendimentos diários (quatro pela manhã e quatro pela tarde) em cada um dos dois ambulatórios clínicos em funcionamento diariamente no hospital.

As instalações do hospital encontram-se em prédio próprio (Figura 8), situado UFRPE / UAG e são distribuídas em quatro ambulatórios médicos. Dois deles utilizados para atendimento de rotina, um para coleta de citologia feitos pelo laboratório de patologia clínica em dias específicos e outro para aulas práticas da graduação. As instalações do hospital também possuem mais duas salas, uma para exames de ultrassom, os quais ocorrem diariamente e a sala de fluidoterapia, onde os animais recebem os cuidados básicos disponíveis quando necessários.

O ambulatório onde ocorreu o estágio recebe pequenos animais domésticos de Garanhuns e região, dispondo de mesa para atendimentos, balança e armário onde encontram-se fármacos utilizados na rotina médica. (Figura 9).

Figura 8 – Fachada do Hospital Veterinário Universitário – UFRPE/ UAG



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 9 - Ambulatório de rotina do Hospital Veterinário Universitário - UFRPE/ UAG



Fonte: Arquivo pessoal.

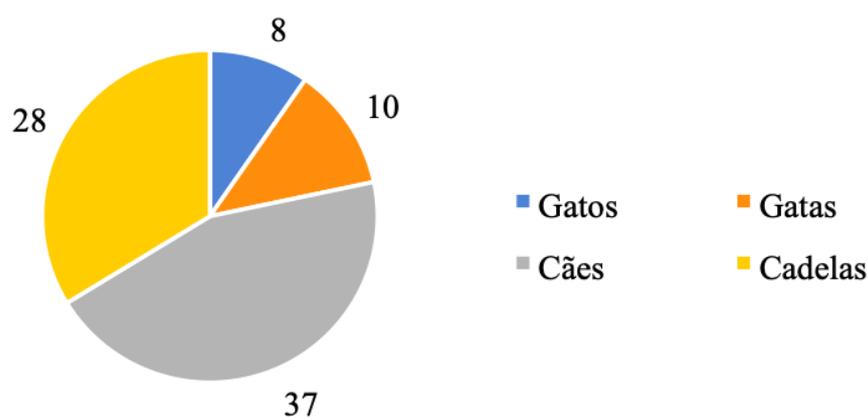
3.2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

Durante o estágio no Setor da Clínica de Pequenos Animais foi liberado pelo médico veterinário responsável (supervisor) o preenchimento da anamnese do animal, traçando seu histórico ambiental, alimentar e sanitário ou, em caso de retornos, avaliar do ponto de vista atual, em que situação o animal se encontrava. Enquanto seguíamos para o exame físico era verificado, em ficha clínica, se as informações eram preenchidas corretamente e quando necessário eram complementadas. No exame físico eram avaliados o comportamento do animal, postura, coloração de mucosas, tempo de preenchimento capilar (TPC), palpação de linfonodos, temperatura corpórea, além da verificação mais detalhada do sistema acometido, segundo queixa clínica do tutor. Enquanto as alterações encontradas eram notificadas, o supervisor conferia as alterações descritas e instituía a conduta terapêutica. Quando necessário, o uso de medicamento em ambulatório era feito e requerido pelo médico veterinário, enquanto o cálculo de dosagem e a aplicação eram procedidas pelos estagiários presentes. Ademais, a todo momento durante o atendimento, o estagiário era arguido quanto às suas suspeitas clínicas frente ao histórico clínico do caso, bem como, quais seriam os possíveis exames a serem solicitados para fechar ou estreitar a suspeita clínica. Caso os exames solicitados (ex.: coleta e encaminhamento de amostras sanguíneas e raspado cutâneo) fossem realizados pelo laboratório clínico do HVU – UFRPE/ UAG ou fluidoterapia fosse instituída, era permitido tanto o acompanhamento quanto a execução dos mesmos.

3.3 Casuística

Durante o período compreendido entre os dias 14 de outubro e 14 de novembro de 2019 foram acompanhados 104 animais entre pacientes caninos e felinos de ambos os sexos (Figura 10).

Figura 10 – Distribuição absoluta de pacientes atendidos no Hospital Veterinário Universitário da UFRPE/ UAG no período de 14 de outubro a 14 de novembro de 2019



Fonte: O próprio autor.

Por fim, dentre as patologias mais recorrentes na rotina acompanhada tivemos, em ordem decrescente: neoplasias (carcinoma mamário, lipoma, tumor venéreo transmissível e mastocitoma), hemoparasitose, gastroenterites (a maior parte virais), dermatites, atropelamentos, otite e gestações.

PARTE II

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA: DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA

1 INTRODUÇÃO

A anemia hemolítica imunomediada é uma doença de caráter autoimune relativamente mais comum em cães do que em gatos. Como consequência da doença, tem-se a lise das hemácias, a qual resulta em uma diminuição importante da massa eritrocitária quanto ao quantitativo celular e ao hematócrito. Em determinados casos de distúrbios imunohematológicos a hemoterapia se faz necessária tanto para a terapia de suporte quanto para o aumento da sobrevida do paciente (até que outros tratamentos possam ser administrados).

A hemoterapia é uma importante ferramenta de suporte para procedimentos como cirurgias, reposição sanguíneas em casos de hemorragias ou anemias, coagulopatias e hipoproteinemia, por exemplo. Em casos de anemia hemolítica imunomediada, a hemoterapia pode ser instituída diretamente para o controle específico da mesma, de patologias concomitantes, bem como, de agravantes do quadro clínico. Contudo, a hemoterapia encontra problemas para sua instituição rotineira na clínica médica, devido ao pequeno número de doadores (falta de informação por parte da população tutora sobre os requisitos dos animais doar), à dificuldade do armazenamento do produto doado e aos elevados custos associados à manutenção de equipamentos necessários para o trabalho com hemocomponentes (ex: centrifugas refrigeradas para bolsas de sangue apresentam custo acima de R\$ 50.000,00). Em alguns países, bancos de sangue de animais são amplamente difundidos e bem equipados, porém o oferecimento deste tipo de instalação e serviço no Brasil ainda é restrito, o que dificulta o emprego da terapia transfusional nas diversas regiões brasileiras.

Assim, frente aos prejuízos homeostáticos gerados pela anemia hemolítica imunomediada aos pacientes, bem como, a frequente ocorrência da mesma na clínica veterinária de pequenos animais, foi objetivo do presente trabalho de conclusão de curso revisar esta afecção, dando enfoque o seu diagnóstico e controle terapêutico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

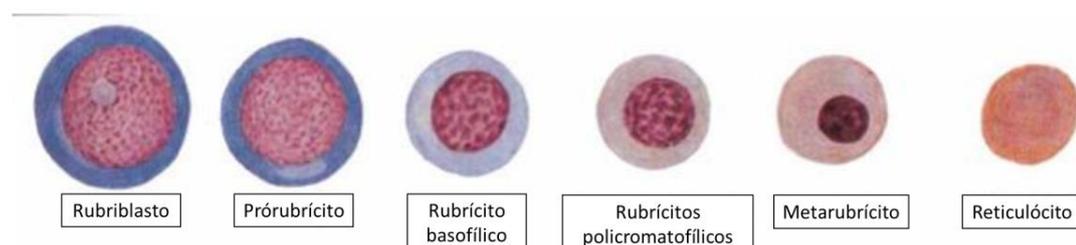
2.1 ERITROPOIESE

Eritropoiese é parte da hematopoiese, cuja função é a produção de eritrócitos, a qual trata-se de um sistema complexo, envolvendo células-tronco e citocinas (STOCKHAM; SCOTT, 2011). Enquanto fase embrionária, a eritropoiese tem início no saco vitelino, período de formação vascular, a partir do desenvolvimento fetal, o fígado, baço e medula óssea passam a ser os órgãos de produção sanguínea de maior importância. Desse modo, na metade final do desenvolvimento fetal, a medula óssea passa a ser o principal órgão hematopoiético, salientando ainda os órgãos linfoides periféricos, os quais atuam no amadurecimento de linfócitos. Assim, logo após o nascimento, esse processo eritropoiético passa a ocorrer somente na medula óssea de todos os ossos e posteriormente, limita-se aos ossos chatos e epífises dos ossos longos (LOPES, 2007).

O processo básico da maturação da série eritrocítica ocorre pela síntese de hemoglobina e a formação de um corpúsculo pequeno e bicôncavo que é o eritrócito em si e que, por conta de seu formato, oferece o máximo de superfície para as trocas de oxigênio. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Assim, a síntese eritrocitária tem seu início a partir de células tronco. As células troncos dão origem a duas linhagens celulares, linfóide (células que originarão os linfócitos) e mieloide (células que originarão os eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas). A linhagem mieloide é estimulada a se proliferar e diferenciar em *burst* de unidade formadora eritróide (BUF-E) pela interleucina 3 (IL-3) e fator estimulante de colônia granulocítica-monocítica na presença de eritropoietina. A transformação de BUF-E em unidade formadora de colônia eritróide (UFC-E) é resultado da influência de citocinas produzidas por macrófagos e linfócitos T ativados, bem como, do microambiente medular local adequado, o qual é potencializado por fatores de crescimento. Existem fatores de crescimento como interleucinas, citocinas e fatores estimuladores de colônia que atuam de forma específica em determinadas linhagens, de forma influenciadora em outras e atuando de forma sinérgica entre elas. Dentre os fatores primários, a eritropoietina tem envolvimento na fase de proliferação e diferenciação de UFC-E em rubriblasto que é a primeira célula dessa linhagem reconhecida morfológicamente (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; LOPES, 2007).

Assim, o primeiro estágio celular diferenciado da linhagem mieloide com potencial para tornar-se um eritrócito é o rubriblasto e a Figura 11 apresenta simplificadaamente os estágios celulares de maturação eritrocitária.

Figura 11 – Estágios celulares de maturação eritrocitária na espécie canina



Fonte: Adaptado de HARVEY (2001).

Quanto ao rubriblasto, Harvey (2001) descreve que se trata de uma célula grande com citoplasma bastante basofílico pela grande presença de poliribossomos em seu citoplasma, relação núcleo citoplasma alto, núcleo centralizado com cromatina granular fina e pode apresentar de um a dois nucléolos. Essas células passam por uma série de etapas de diferenciação, resultando em uma diminuição progressiva do tamanho celular (de acordo com seu estágio de maturação), um aumento gradativo na concentração de hemoglobina citoplasmática e condensação progressiva da cromatina nuclear (SHARKEY; HILL, 2010).

Harvey (2001) caracteriza ainda os prórubricitos, próximo estágio da eritropoiese, por não possuírem nucléolos visíveis, cromatina um pouco menos condensada e a relação entre o núcleo e citoplasma está ligeiramente diminuída. Sharkey e Hill (2010) corroboram a última afirmação, ao destacarem que os nucléolos são caracteristicamente pouco visíveis em prórubricitos.

Rubricitos basofílicos continuam apresentando o citoplasma azulado, porém são de menor tamanho em relação ao prórubricito, com índices também menores da relação núcleo citoplasma do seu estágio anterior e a condensação do núcleo apresenta áreas claras e escuras dando um aspecto de roda dentada (SHARKEY; HILL, 2010).

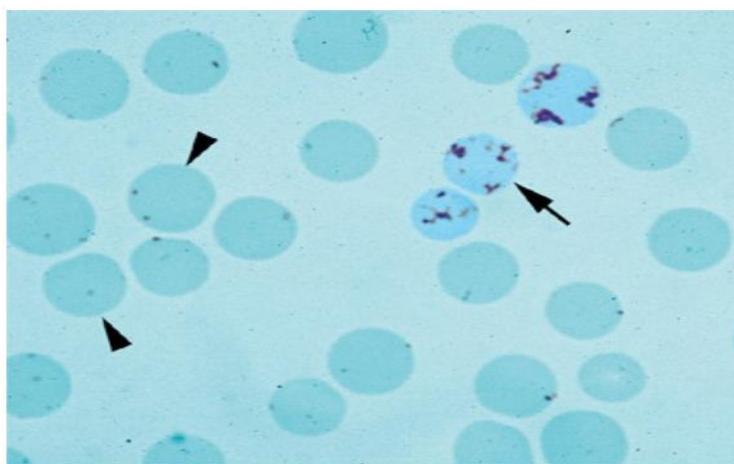
Os rubricitos policromatofílicos combinam a presença de hemoglobina (corada em vermelho) e ribossomos (corado em azul) com aspecto azul avermelhado em seu citoplasma. Além disso, estes rubricitos são menores e possuem maior condensação nuclear. Um pequeno número dos rubricitos em equinos e felinos podem ter o citoplasma mais avermelhado,

similarmente às células maduras e são conhecidos como rubrícitos ortocromáticos (sendo importante saber diferenciá-los) (SHARKEY; HILL, 2010).

Sequencialmente, metarrubrícitos são as células nucleadas mais maduras da fase de maturação eritrocitária, os quais manifestam núcleo picnótico com poucas ou nenhuma área clara e citoplasma policromatofílico, podendo chegar a ser normocrômico (SHARKEY; HILL, 2010).

Como penúltimo estágio de maturação eritrocitária, os reticulócitos são células semelhantes aos rubrícitos policromatofílicos, porém já não apresentam o núcleo. A síntese contínua de hemoglobina e a perda dos ribossomos resultam em eritrócitos maduros com citoplasma de coloração vermelha e pontos basofílicos representando principalmente o RNA ribossomal (SHARKEY; HILL, 2010). Thrall e colaboradores (2007) relataram que em gatos há mais de um tipo de reticulócito presente, sendo reticulócitos agregados ou pontilhados (os agregados têm um retículo aglutinado, que aparentemente é idêntico ao de outras espécies; e os pontilhados, não encontrados em outras espécies, possuem pontos discretos visíveis à microscopia óptica, sem nenhum aglutinado) (Figura 12). Outra particularidade dos reticulócitos ocorre nos equinos, cujos reticulócitos não são liberados na corrente sanguínea devido à (LACERDA, 2015).

Figura 12 – Morfologia de reticulócitos de felinos em coloração novo azul de metileno



A seta indica três reticulócitos agregados, enquanto nas pontas de seta são indicados reticulócitos pontilhados.

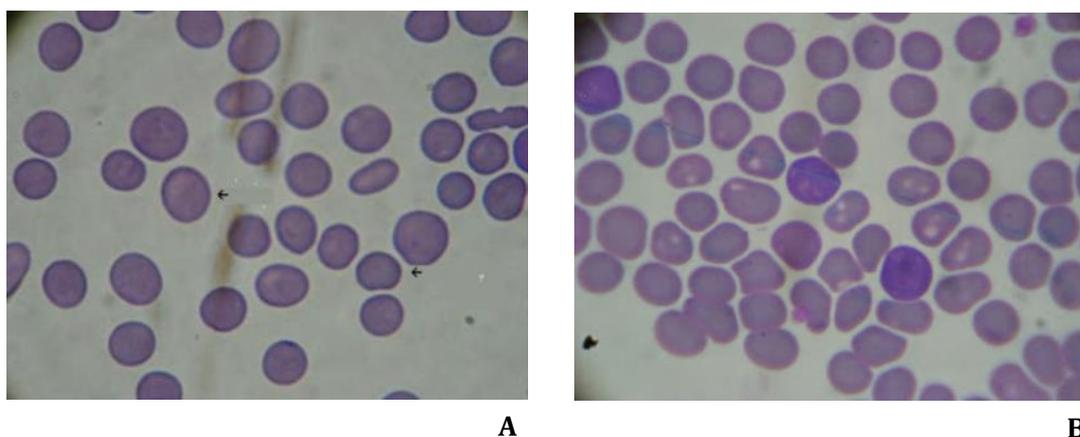
Fonte: THRALL et al. (2007).

Por fim, os eritrócitos, cuja morfologia é variada em diferentes espécies animais, mas na maioria dos mamíferos adquirem forma arredondada, bicôncava e sem núcleo. Sua membrana é permeável e flexível, e composta por lipídios, proteínas e carboidratos. As hemácias têm como função transportar a hemoglobina, sendo esta última responsável por carrear o oxigênio necessário para os tecidos (THRALL et al., 2007).

2.2 ERITROGRAMA

O eritrograma compreende a contagem do número total de hemácias por microlitro (μL), concentração de hemoglobina (g/dL), volume globular (VG) (%), volume corpuscular médio (VCM) (fl), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%), reticulócitos (%) e também as observações em esfregaço sanguíneo, por exemplo, alterações morfológicas, anisocitose, policromasia e inclusões (Figura 13) (LOPES, 2007).

Figura 13 – Alterações morfológicas de hemácias



A – Anisocitose em espécie canina (tamanhos variados de hemácias) e **B** – policromasia em espécie canina (coloração variada de hemácias).

Fonte: BARROS (2009).

Dentre os parâmetros de avaliação do eritrograma há o valor de massa eritrocitária, o qual possibilita o diagnóstico de anemia ou policitemia, que são definidas como a diminuição ou aumento, respectivamente, do número de hemácias e/ou concentração de hemoglobina e/ou hematócrito (THRALL et al., 2015; MACEDO et al., 2015). Seus valores podem ser reduzidos por anemia fisiológica em fase de gestação, por exemplo, ou em situações

patológicas decorrentes de deficiências nutricionais, doenças hemolíticas, hemorragias, anemia da doença crônica e anemia da doença renal (MACEDO et al., 2015).

O volume globular (VG) é definido como a porcentagem de eritrócitos no sangue e sua avaliação é muito útil para estudo da série vermelha e monitoramento de casos de desidratação, hemorragias e anemias, caso haja necessidade de transfusão sanguínea, bem como, verificar a efetividade desta última (LOPES, 2007; MACEDO et al., 2015).

Ao aliar a contagem dos eritrócitos ao VG é possível calcular o volume corpuscular médio (VCM). As alterações nesses valores (aumento ou diminuição) indicam macrocitose, microcitose, respectivamente. A concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) indica concentração de hemoglobina de um eritrócito médio, a qual apresentar-se normal (normocrômica) ou diminuído (hipocrômica). Eritrócitos hiperocrômicos (ou seja, CHCM aumentado) indicam erros como hemólise ou presença de corpos Heinz pois o volume das hemácias tem seu limite de armazenagem da hemoglobina. (WILLARD, 2012)

Paes (2009) explana que, a avaliação de reticulócitos tem função de acompanhamento mais preciso da resposta medular do paciente do que apenas a observação dos índices hematimétricos e morfológicos. Existem três métodos mais comuns de contagem, são eles: a concentração de reticulócitos expressa em número de reticulócitos por uL de sangue, também chamada de contagem de reticulócitos; porcentagem de reticulócitos, que é a quantidade relativa de reticulócitos dentro da população total de eritrócitos em uma amostra sanguínea e a porcentagem de reticulócitos corrigidas representando o percentual de reticulócitos relacionado diretamente ao hematócrito atual do animal (STOCKHAM, 2011).

Quanto a morfologia observada em microscopia ótica, os eritrócitos que apresentam formas anormais recebem alguns nomes específicos, de acordo com alterações particulares, ou recebem uma denominação genérica de poiquilócitos (Figura 14) (STOCKHAM, 2011). De modo específico, são bastante reconhecidas algumas denominações morfológicas de alterações eritrocitárias (THRALL et al., 2015; PAES, 2009):

- **Esquistócitos:** são fragmentos irregulares de células que sofreram algum tipo de trauma intravascular (Figura 14). Pode ser encontrado em animais com coagulação intravascular disseminada causada pela quebra dos eritrócitos por filamento de fibrina, em neoplasias como o hemangiossarcoma, onde nesses casos também são observados acantócitos.
- **Ceratócitos:** são células com uma ou duas projeções em sua membrana (Figura 14). Podem ser visualizadas por lesões oxidativas, assim como também, ocorre com os

esquistócitos. Thrall e colaboradores (2007) ainda afirmaram que quando as projeções se desprendem da célula acabam originando os esquistócitos.

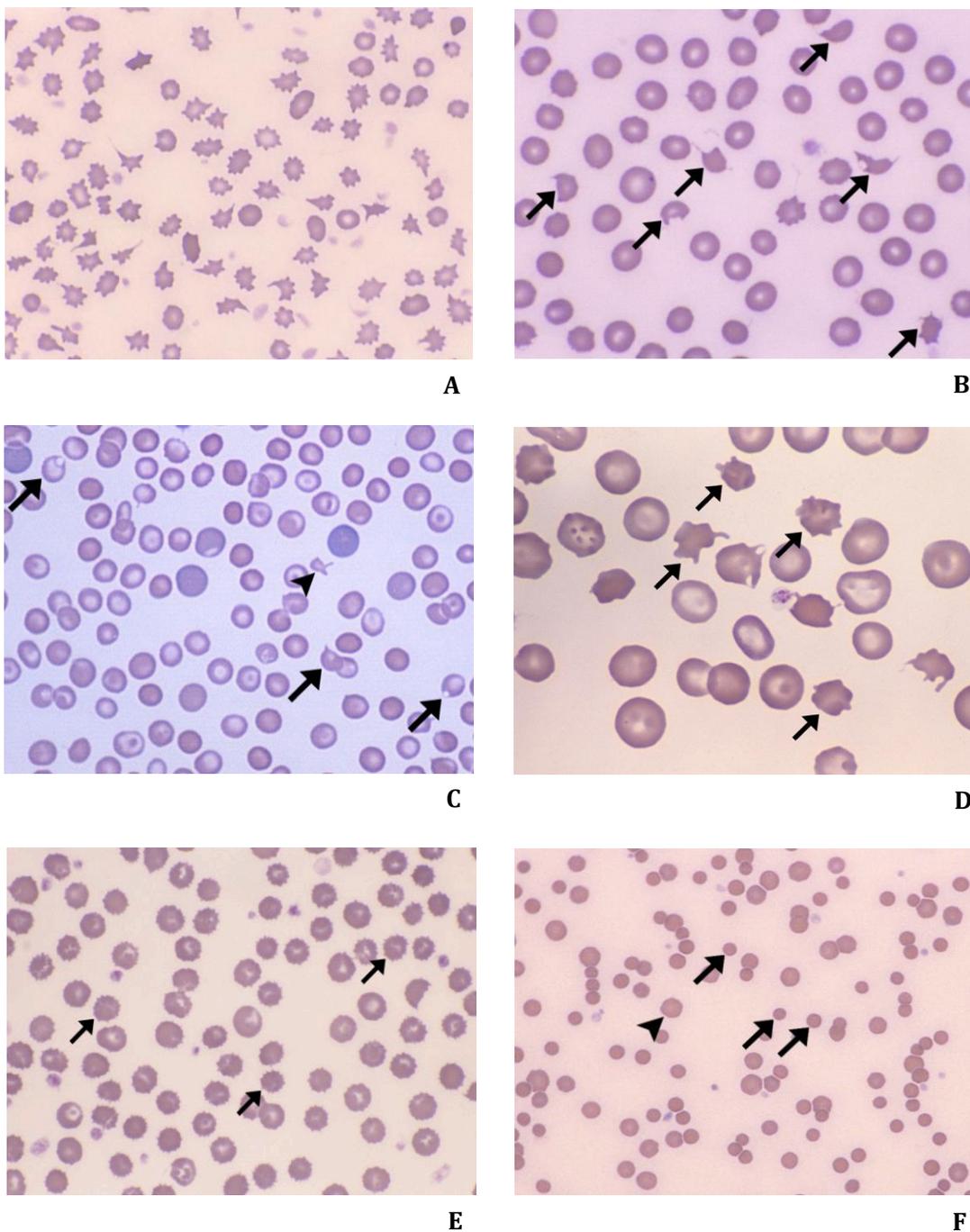
- **Acantócitos:** são eritrócitos em formato de esporas apresentando espículas em diversos tamanhos e números (Figura 14). Ocorrem provavelmente como resultado de alterações na concentração de colesterol e fosfolípidos da membrana celular. É comumente encontrado em esfregaços de gatos com lipidose hepática e cães com hemangiossarcoma.

- **Equinócitos:** são semelhantes aos acantócitos, porém possuem espículas numerosas e uniformes em forma, tamanho e espaçamento entre elas (Figura 14). Encontrar essa alteração pode ser um artefato por consequência de excesso do EDTA, demora na secagem do esfregaço sanguíneo ou ainda tempo prolongado na estocagem da amostra antes da preparação do esfregaço.

- **Esferócitos:** são eritrócitos de coloração escura que perderam a palidez central parecendo menores, mas com seu volume normal (Figura 14). São mais facilmente encontrados em cães, pois em outros animais o tamanho e palidez central preexistentes dificultam a observação deles. Os esferócitos apresentam menor quantidade de membrana, como resultado de fagocitose da membrana plasmática, decorrente da presença de anticorpos ou de complemento na superfície do eritrócito e sua presença é sugestiva de anemia hemolítica imunomediada.

Também podem ser observadas determinadas estruturas celulares (inclusões intracelulares) (Figura 15) como corpúsculos de Heinz, pontilhados basofílicos, inclusões de Lentz e corpúsculo de Howell-Jolly. Os corpúsculos de Heinz são grandes agregados de hemoglobina que se precipitam quando ela é oxidada, ligando-se à superfície interna da membrana celular. Pontilhados basofílicos são formados por ribossomos agregados no organismo *in vivo* e as inclusões de Lentz são inclusões virais de cinomose canina encontrados durante a fase virêmica da doença (PAES, 2009).

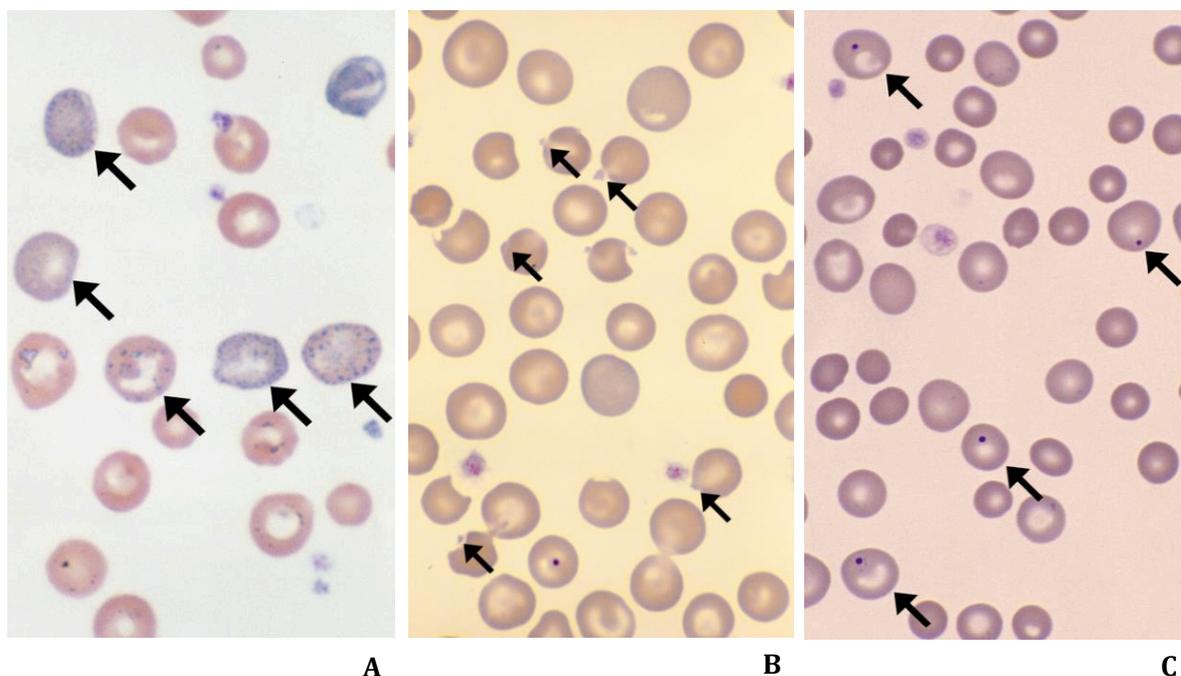
Figura 14 – Alterações de formato de eritrócitos



A – poiquilocitose em bezerro, **B** – esquizócito em cão com microangiopatia (seta), **C** – ceratócitos em cão (seta), **D** - acantócitos em cão com hemangiossarcoma (seta), **E** – equinócitos em cão (artefato gerado por EDTA) (seta) e **F** – esferócitos em cão (seta) e hemácia normal (cabeça de seta).

Fonte: Cells and Smears – Veterinary Clinical Pathology Digital Database: Hematology (2019).

Figura 15 – Inclusões intraeritrocitárias



A – pontilhados basofílicos em bovinos com anemia regenerativa (seta), **B** – corpúsculo de Heinz em cão com intoxicação por cebola (setas) e **C** – corpúsculos de Howell-Jolly em cão.

Fonte: Cells and Smears – Veterinary Clinical Pathology Digital Database: Hematology (2019).

2.3 ANEMIA

Anemia pode ser definida como a situação em que a massa total eritróide sanguínea periférica está abaixo dos valores de referência, levando em consideração o gênero, idade e raça. Segundo Jericó (2015) a diminuição de três variáveis no eritrograma permitem determinar a presença ou não de um quadro anêmico em pacientes em estado de hidratação normal, são elas: concentração de hemoglobina, hematócrito (ou volume globular - VG) e/ ou número total de eritrócitos em um animal com hidratação normal, pois ela pode alterar tais valores (LACERDA, 2015).

O distúrbio anêmico é uma das anormalidades hematológicas mais comuns em clínica veterinária e pode ser a causa de algumas doenças. Ela pode ser causada por três mecanismos: perda sanguínea por hemorragia, destruição celular e diminuição da produção eritrocitária que resulta na diminuição da oxigenação dos tecidos, ambos com possibilidade do surgimento de manifestações clínicas específicas (THRALL et al., 2015; STOKOL, 2017).

2.3.1 Sinais clínicos

Quanto aos sinais clínicos inespecíficos detectáveis ao exame físico do paciente podemos citar palidez, perda de peso, petéquias, equimoses, linfadenopatia, hepatomegalia, esplenomegalia; taquicardia, sopro cardíaco (NELSON; COUTO, 2015). Já nos sinais clínicos específicos associados à anemia hemolítica podem ser inclusos esplenomegalia, icterícia e urina escurecida, devido à hemoglobinúria ou bilirrubinúria. (THRALL et al., 2015)

2.3.2 Classificação

A anemia pode ser classificada quanto à morfologia, tamanho e coloração por meio da mensuração do teor de hemoglobina sérico, bem como, na resposta da medula óssea, pois a responsividade da medula óssea ao distúrbio presente permite inferir acerca de diagnósticos diferenciais. Vale ressaltar que a fisiopatogenia de anemias apenas fornece uma base conceitual para o diagnóstico de distúrbios causadores de anemia (THRALL et al., 2015)

Para classificação morfológica da anemia são utilizados os valores de VCM e CHCM. Partindo deles, existem três classificações mais importantes: anemia normocítica normocrômica, macrocítica hipocrômica e microcítica hipocrômica (WILLARD; TVEDTEN, 2012). De acordo com a quantidade de hemácias imaturas presentes na corrente sanguínea a anemia pode ser classificada como regenerativa ou arregenerativa (THRALL et al., 2015).

Anemias do tipo normocítica normocrômica persistentes são vistas em casos arregenerativos com a medula óssea liberando poucos reticulócitos ou ausência total deste tipo de linhagem mieloide na corrente sanguínea. A maioria dos eritrócitos no sangue são aqueles normocíticos normocrômicos restantes de outra produção (WILLARD; TVEDTEN, 2012).

Casos de anemia macrocítica hipocrômica geralmente indicam anemia regenerativa associada ao aumento do número de reticulócitos e originada por perda sanguínea ou hemólise (STOCKHAM, 2011). De acordo com o grau de regeneração, anemias causadas por destruição celular ou perda sanguínea tendem a ter medula óssea responsiva à doença (WILLARD; TVEDTEN, 2012). No início, a liberação de eritrócitos imaturos é um sinal de resposta normal da medula em decorrência do aumento da produção de eritropoetina, principalmente pelo tecido renal. São, de modo geral, percebidos aumentos de eritrócitos imaturos em um período de dois a quatro dias dos episódios anêmicos. Morfológicamente são

chamadas de anemia macrocítica hipocrômica pelo maior tamanho dos reticulócitos e maior concentração de hemoglobina encontrada nessas células (THRALL et al., 2015).

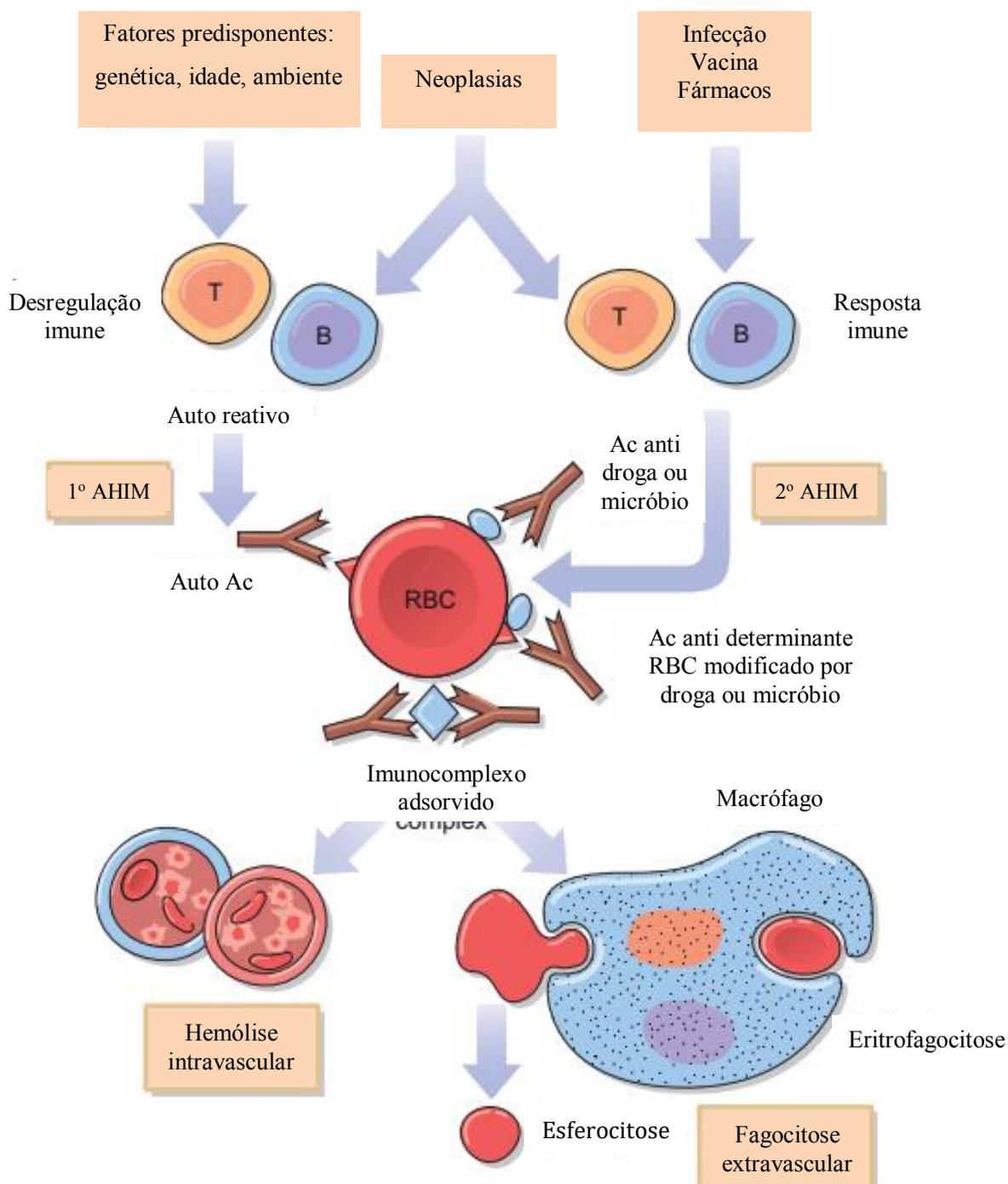
A ausência de eritrócitos imaturos circulantes indica anemia arregenerativa e deve ser considerado como evidência de disfunção medular (THRALL et al., 2015). Dentre as anemias arregenerativas, podemos subclassificá-las em primária ou secundária. A anemia arregenerativa primária geralmente tem ligação com a medula óssea, seja por distúrbios neoplásicos, hipoplásicos ou displásicos. A patogenia deste tipo de anemia acontece quando as células neoplásicas ou inflamatórias deslocam os precursores eritróides normais levando a displasias quando há um bloqueio da maturação dos mesmos, hipoplasia em decorrência de refração ou ainda se houver ausência ou diminuição severa (aplasia). No caso da secundária, a origem encontra-se num órgão ou sistema fora da medula óssea, porém com alterações que causam uma diminuição da eritropoiese como por exemplo agentes infecciosos, deficiências nutricionais, inflamação crônica, endocrinopatias e doenças induzidas por fármacos ou toxinas (DRUMOND, 2013; NELSON; COUTO, 2015).

2.4 ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é uma síndrome clínica resultante da destruição acelerada das hemácias por mecanismos imunomediados. A AHIM é caracterizada como causa mais comum da anemia hemolítica em cães, ao contrário do que acontece em gatos. Geralmente acomete mais fêmeas devido a influências hormonais (por mecanismos ainda desconhecidos) (DAY, 2010) e não há predisposição quanto a raças, contudo, Cocker Spaniel, Poodle e Sheepdog são raças frequentemente acometidas (MILLER; HOHENHAUS; HALE, 2004). Ela ainda pode ser dividida em primária (anemia hemolítica autoimune verdadeira), na qual auto-anticorpos são direcionados contra antígenos de membrana das hemácias normais, e secundária, devido à exposição dos pacientes a venenos, fármacos e até vacinas, os quais funcionarão como fatores precipitadores de hemólise, além de infecções e neoplasias (Figura 16) (NELSON; COUTO, 2015). Segundo McCullough (2003), a AHIM primária é um exemplo de reação autoimune tipo II, cuja hemólise ocorre pela fixação do sistema complemento ou de imunoglobulinas, como IgG e IgM na membrana eritrocitária. Enquanto que para AHIM secundárias temos o levamisol, carprofeno, sulfonamidas e cefalosporinas como substâncias precipitadoras do distúrbio. Ressalta-se ainda que outros gatilhos para AHIM foram identificados, incluindo linfoma, doenças mieloproliferativas e

doenças infecciosas como babesiose, erliquiose, leishmaniose, riquetsioses (WILLARD; TVEDTEN, 2012).

Figure 16 – Patogenia da anemia hemolítica imunomediada



Em AHIM primária, fatores predisponentes como genética, idade e ambiente desregulam o sistema imune tornando-o auto reativo à superfície dos eritrócitos do paciente, ocorrendo hemólise intravascular e fagocitose extravascular por mecanismos imunes, este último levando o aparecimento dos esferócitos. Na secundária a resposta imune ocorre por alterações na superfície dessas hemácias causadas por infecções, fármacos ou até vacinas onde ocorrerão os mecanismos já citados anteriormente.

Fonte: modificado de Day (2010).

2.4.1 Hemoparasitos geradores de anemia hemolítica imunomediada secundária

A maioria dos casos de AHIM em cães é secundária e relacionada à *Ehrlichia* spp. em áreas enzoóticas para estas infecções (MORAES et al., 2016). Porém, hemoparasitos como babesia e anaplasma também podem ser encontrados (PIEK, 2017).

As anemias associadas à erliquiose devem ser consideradas como fator de risco ou incluídas no quadro de alterações clínicas relacionadas às possíveis alterações hemostáticas. (MORAES, 2016). Hipoalbuminemia e hiperglobulinemia associadas à trombocitopenia devido à rápida multiplicação do agente no sangue e a vasculite generalizada são características frequentemente encontradas em anemias associadas a infecções por erliquia (MONTEIRO, 2007).

Em casos de babesiose, os achados laboratoriais mais comuns são a anemia regenerativa, trombocitopenia, hiperbilirrubinemia, sendo as duas primeiras as principais anormalidades hematológicas observadas (MORAES et al., 2016). Durante a reprodução, os agentes levam à ruptura das hemácias, juntamente à eritrofagocitose, as quais resultarão em um quadro de anemia regenerativa. A eritrofagocitose, neste caso, é originada tanto da existência de antígenos na superfície das hemácias quanto da fragilização de sua membrana, (as quais exporão por consequência antígenos próprios) (SOARES, 2015).

Já os achados laboratoriais da anaplasmosose podem constituir-se em episódios cíclicos de trombocitopenia, anemia intermitente, hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemia (HARVEY et al., 1978; LASTA, 2011). As trombocitopenias aparecem ciclicamente em um período médio de dez dias. O número de plaquetas parasitadas decresce durante o parasitismo, contudo, a trombocitopenia permanece acentuada para tornar-se branda posteriormente (HARVEY, 2015).

2.4.2 Diagnóstico laboratorial

Em casos de AHIM, alguns achados laboratoriais são bem característicos: policromasia com autoaglutinação e esferocitose (LACERDA; HLAVAC, 2015), trombocitopenia, hemácias fantasmas, hemoglobulinemia, hemoglobinúria, hiperbilirrubinemia e hiperbilirrubinúria (NELSON; COUTO, 2015).

O teste de antiglobulina direta indica a presença de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA) ou sistema complemento na superfície das membranas eritrocitárias, entretanto, apesar da

etiologia autoimune, o estado clínico do animal é crucial para fechar o diagnóstico (HILLS, 2016). Ele consiste em misturar a amostra sanguínea com o reagente de Coombs contendo anticorpos polivalentes específicos da superfície dos eritrócitos que apresentam alterações. Caso essas células apresentem antígenos suficientes para reagirem com os anticorpos, o teste será considerado positivo. Tal teste, também conhecido como teste de Coombs direto, é tão específico quanto sensível para casos de AHIM em uma proporção de aproximadamente 60% (WILLARD; TVEDTEN, 2012). Piek (2011) sugere o uso de múltiplos testes laboratoriais para superar o problema da baixa sensibilidade do teste de Coombs direto para o diagnóstico AHIM. O teste de Coombs é pouco específico e pode estar associado a doenças não hemolíticas por deposição de imunoglobulinas ou complexos de infecções crônicas como lúpus eritematoso, além de doenças renais (HILLS, 2016). Garden e colaboradores (2018) ainda explicam que caso o teste de antiglobulina direta não seja de possível implementação, a combinação de sinais clínicos de anemia, hemólise e aglutinação persistente são suficientes para fechar o diagnóstico de AHIM (Figura 21)

Figure 17 – Algoritmo diagnóstico para anemia hemolítica imunomediada



Fonte: GARDEN et al. (2019).

Para caracterizar a AHIM é fundamental considerar nas avaliações de anemia e seus graus de regeneração: a presença de reticulócitos, a morfologia eritrocitária, contagem de

plaquetas, cálculo dos índices hematimétricos e avaliação da *red blood cell distribution width* (RDW), sendo este último apenas mais um indicador de gravidade das anemias juntamente com os outros citados anteriormente (LACERDA, 2015). RDW significa amplitude de distribuição das hemácias, dada por uma expressão numérica correlacionada ao grau de anisocitose, a qual representada pelo desvio padrão encontrado no tamanho dos eritrócitos dividido pelo VCM (ZVORC, 2010; THRALL et al., 2015).

A aglutinação em salina faz parte dos testes laboratoriais complementares para o diagnóstico da doença, uma vez que auxilia na diferenciação entre *rouleaux* ou aglutinação propriamente dita e cuja especificidade é de aproximadamente 95 %. Vale ressaltar que o teste de aglutinação em salina é apropriado quando aglomeração está aparente, porém, não é indicado para observar aglutinação quando aglomeração não estiver presente. O teste de aglutinação em salina é basicamente a diluição de uma amostra sanguínea em solução salina na proporção de 1:1 ou 1:4. À inspeção microscópica a partir do microscópio o *rouleaux* irá dispersar-se quando a concentração da proteína total plasmática estiver diminuída pela diluição de sangue com a solução salina, restando portanto, a aglutinação verdadeira, o que conduzirá à suspeita de um quadro de AHIM (STOCKHAM, 2011; PAES, 2013).

2.4.3 Controle terapêutico

A conduta terapêutica para AHIM é baseada em glicocorticoides (2 - 4 mg/ Kg de prednisona a cada 12 - 24h em cães), os quais atuarão de três formas: suprimindo a atividade do sistema monocítico fagocitário, reduzindo a ligação do sistema complemento aos anticorpos e suprimindo a produção de imunoglobulinas (NELSON; COUTO, 2010). O tratamento deve ser instituído logo após a coleta de todo material necessário para os testes diagnósticos (SWANN et al., 2019). Associado à prednisona, se faz necessária a terapia antitrombótica com heparina não fracionada, com dose individual ajustada (podendo ser associada ou não a um antiplaquetário em todos os animais com AHIM e níveis de plaquetas > 30.000 plaquetas/ uL), pois cães com hemólise estão sob elevado risco de desenvolver coagulação intravascular disseminada (CID) e trombose (NELSON; COUTO, 2010; SWANN et al., 2019).

Terapias alternativas como esplenectomia e ciclosporina podem ser utilizadas para casos refratários. Horgan e colaboradores (2009) constataram, em estudo retrospectivo, que a esplenectomia foi benéfica, pois animais esplenectomizados tiveram uma redução da

necessidade de transfusões e aumento do hematócrito nos 30 dias pós-procedimento. Apesar dos benefícios, Pereira (2015) destaca o aumento do risco de septicemia, hemoparasitoses e do risco cirúrgico. A ciclosporina é um imunomodulador originalmente usado para prevenir o índice de rejeições em transplantes, não causa mielossupressão e é indicada para casos de AHIM refratária e não regenerativa (PEREIRA, 2015). No entanto, Swann e colaboradores (2011) concluíram, em um estudo retrospectivo, que a taxa de mortalidade de paciente após um ano de tratamento foi de 45 % com a associação prednisolona - ciclosporina em detrimento dos animais tratados com a associação prednisolona - azatioprina (80 % de mortalidade). Outro ponto negativo é o alto custo terapêutico da associação prednisolona - ciclosporina, podendo o último quimioterápico ser substituído por cetoconazol para redução dos custos (PEREIRA, 2015).

Swann e colaboradores (2019) resumem o tratamento da AHIM primária, bem com, o desmame do mesmo com corticoide da seguinte forma: caso animal não responda em aproximadamente sete dias de tratamento, deve-se adicionar uma segunda droga imunossupressora e então observar novamente o VG. Caso ainda não ocorra controle da doença, é preciso checar alguns fatores como a dosagem das drogas e comprometimento do tutor, administração das drogas com alimentos e o diagnóstico correto da enfermidade, optando pela esplenectomia ou adição de uma terceira droga imunossupressora se ainda não obtiver bons resultados. Assim, com valor de VG estável ou com aumento de 30 % do mesmo por duas semanas após o tratamento e melhora quanto aos testes realizados no paciente, o desmame pode ser iniciado. Este autor ainda recomenda que em animais com AHIM secundária, os fatores primários devem ser inicialmente controlados para que então, o tratamento específico da anemia possa ser instituído como explanado anteriormente.

2.4.3.1 Terapia de suporte

O tratamento principal para a AHIM consiste em ministrar imunomoduladores, porém, quando há decréscimo dos valores de hematócrito, comprometendo a oxigenação dos tecidos, a hemoterapia se faz necessária para manter os animais a salvo (PIEK, 2017). A hemoterapia deve ser instituída visando manter a volemia, caso os animais estejam desidratados e necessitando reposição de hemocomponentes; e adicionalmente pode ser recomendado a oxigenoterapia e repouso.

Os hemocomponentes são alternativas bastante úteis para o tratamento de diversas doenças de forma específica. Ao coletar a bolsa de sangue total, podemos separar em concentrado de hemácias e plasma rico em plaquetas, os quais serão armazenados em bolsas diferentes. O plasma contém fatores de coagulação, fibrinólise e complemento, albumina, imunoglobulinas, outras proteínas e sais minerais quando mantido sob refrigeração (sendo a temperatura de armazenamento importante para que não haja alterações nos fatores de coagulação e estejam viáveis para transfusão). Sua função consiste em controlar plaquetopatias, trombocitopenias ou distúrbios de coagulação (MOROZ; VIEIRA, 2015; WALKER, 2016).

Dentre os hemocomponentes utilizados atualmente, o concentrado de hemácias é o que melhor se adequa aos casos de AHIM, pois este é constituído por hemácias e uma pequena quantidade de plasma, o qual é separado em uma bolsa satélite (a menor quantidade de plasma e seus constituintes, refletem na minimização da estimulação antigênica) (WALKER, 2016). Outro ponto para uso do concentrado de hemácias é que na maioria dos casos, os pacientes são normovolêmicos, não sendo necessária a correção da volemia e, graças ao menor volume deste componente, seu uso é bastante útil. (MOROZ; VIEIRA, 2015). Swann e colaboradores (2019) recomendam o uso de concentrado de hemácias como terapia de suporte, porém caso não seja possível, sangue total também pode ser administrado.

Para instituição de hemoterapia o doador deve cumprir determinados critérios como mostrados na Figura 22, os quais compreendem desde peso e idades mínimos até testes laboratoriais importantes, o que assegurando a saúde tanto do doador quanto do animal receptor.

Ademais, testes de compatibilidade sanguínea devem ser realizados para todas as situações de transfusão, com exceção das emergências, em que exames prévios não são realizados e não haja histórico de exposição anterior do paciente a hemocomponentes (TOCCI, 2016). O teste de compatibilidade consiste em duas provas: a maior e a menor. Na prova maior de compatibilidade as hemácias do doador são misturadas com o plasma do receptor em um recipiente para então, observar aglutinação ou hemólise (simulando possível reação do organismo receptor); já a prova menor ocorre com o plasma do doador e as hemácias do receptor, a fim de verificar se o plasma do doador tem anticorpos contra hemácias do receptor. Frisando também que casos de AHIM podem gerar autoaglutinação em testes de compatibilidade sanguínea, resultando em falsos positivos (MOROZ e VIEIRA, 2015).

Figura 18 – Requisitos básicos para seleção de doadores de hemocomponentes



Fonte: MOROZ; VIEIRA (2015).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

✓ A anemia hemolítica imunomediada é uma doença comum entre cães, geralmente fêmeas, causando diminuição dos níveis de volume globular e número de hemácias. Tal alteração traz prejuízos para oxigenação do organismo devendo ser tratada o quanto antes.

✓ Não existe um teste padrão ouro para diagnóstico da AHIM, porém, uma série de características clínicas aliadas ao teste de Coombs, contagem de reticulócitos, visualização de esferócitos e teste de aglutinação em salina tornam-se boas ferramentas para concluir a suspeita clínica.

✓ A hemoterapia tem importante função como terapia de suporte, trazendo sobrevida maior aos pacientes com AHIM, auxiliando em momentos de emergência até que terapia mais adequada ao caso possa ser instituída.

✓ O uso de hemocomponentes diminui os riscos para pacientes com doenças imunomediadas e normovolêmicos, pois a transfusão de concentrado de hemácias não gera grandes alterações no volume sérico e a minimização de reações transfusionais é assegurada pela menor quantidade de plasma transfundido.

REFERÊNCIAS

BARROS, J.R.B. 2009. **Principais alterações morfológicas nas células do sangue de cães e gatos**. Disponível em: http://saudeanimal-hf.blogspot.com/2011/05/x_4426.html . Acesso em: 03 dez 2019.

CAVIEZEL, L.L.; RAJ, K.; GIGER, U. **Comparison of 4 Direct Coombs' Test Methods with Polyclonal Antiglobulins in Anemic and Nonanemic Dogs for In-Clinic or Laboratory Use**. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, [s.l.], v. 28, n. 2, p.583-591, 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.12292>.

Cells and Smears – Veterinary Clinical Pathology Digital Database: Hematology. **University of Calgary's OER (Open Educational Resources) Pilot Project 2017-2018**. Disponível em: <https://vetclinpathimages.com/hematology/> . Acesso em: 03 dez 2019.

DAY, M. J. **Immune - Mediated Anemias in the dog**. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. *Schalm's veterinary hematology*. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. Cap. 2. p. 102-106.

DRUMOND, M. R. S. **Ocorrência, classificação e fatores de risco de anemia em cães**. 2013. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

GARDEN, O. A. et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs and cats. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [s.l.], v. 33, n. 2, p.313-334, 26 fev. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.15441>.

HARVEY, J.W. Bone marrow examination. In: _____. **Atlas of veterinary hematology: blood and bone marrow of domestic animals**. Philadelphia: Saunders, 2001. Cap.7, p.92-122.

HARVEY, J.W. Infecção por *Anaplasma platys* | Anaplasmose trombocitotrópica. In: GREENE, C. E. **Doenças Infeciosas Em Cães E Gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015. p. 1387.

HARVEY, J.W.; SIMPSON, C.F.; GASKIN, J.M. Cyclic thrombocytopenia induced by a Rickettsia-like agent in dogs. **The Journal of Infection Diseases**, Florida, v. 137, n. 2, p.182-188, 1978.

HILL, Q. A. et al. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia. **British Journal of Haematology**, [s.l.], v. 176, n. 3, p.395-411, 22 dez. 2016. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/bjh.14478>.

HORGAN, J. E.; ROBERTS, B. K.; SCHERMERHORN, T. Splenectomy as an adjunctive treatment for dogs with immune-mediated hemolytic anemia: ten cases (2003-2006). **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, [s.l.], v. 19, n. 3, p.254-261, jun. 2009. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-4431.2009.00419.x>.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 558 p.

KLAGE, A.R.; GIGER, U.; SHOFER, F.S. **Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986- 1990)**. Journal of The American Veterinary Medical Association, [s. l.], v. 202, n. 5, p.783-788, 1993.

LACERDA L.A. Anemias | Avaliação Clínica e Laboratorial. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 198. p. 5436-5449.

LACERDA L.A.; HLAVAC N. R.C. Anemias regenerativas. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 199. p. 5450-5482.

LASTA, C. S. **Fatores de Risco, parâmetros hematológicos e detecção molecular e sorológica de Ehrlichia canis e Anaplasma platys em cães de Porto Alegre/RS –Brasil**. 2011. 84 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LOPES, S.T.A.; BIONDO, A.W.; SANTOS, A.P. **Manual de patologia clínica veterinária**. 3. ed. Santa Maria: UFSM/ Departamento de Clínica de Pequenos Animais, 2007. 107 p

MCCULLOUGH, S.. Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. **The Veterinary Clinics Of North America – Small Animal Practice.**, Illinois, v. 6, n. 33, p.1295-12315, 2003.

MEUTEN, D. Avaliação e interpretação laboratorial do sistema urinário. In: THRALL, M. A. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 689-806.

MILLER, S. A.; HOHENHAUS, A. E.; HALE, A.S. **Case-control study of blood type, breed, sex, and bacteremia in dogs with immune-mediate hemolytic anemia**. JAVMA, Washington, DC, v. 224, n. 2, p. 232-235, 2004.

MONTEIRO. S.G. **Parasitologia Veterinária** UFSM. 2. ed. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2007. 272p

MORAES, L. F. et al. **Avaliação das alterações hemostáticas e do risco tromboembólico em cães com AHIM**. Pesq. Vet. Bras., Rio de Janeiro, v. 36, n. 5, p. 405-411, 2016.

Disponível

em:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100736X2016000500405&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 16 Nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2016000500009>

MOROZ L.R.; VIEIRA J. Transfusão Sanguínea em Cães. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 209. p. 5701-5785.

NELSON, R. W. & COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 5ª ed. Amsterdam: Elsevier, 2015. 4442p.

PAES, G. et al. The use of the rapid osmotic fragility test as an additional test to diagnose canine immune-mediated haemolytic anaemia. **Acta Veterinaria Scandinavica**, [s.l.], v. 55, n. 1, p.55-74, 25 out. 2013. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/1751-0147-55-74>.

PEREIRA P.M. Anemia Hemolítica Imunomediada. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 201. p. 5498-5525.

PIEK, C. **Immune-Mediated Hemolytic Anemias and Other Regenerative Anemias**. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C.; CÔTE, E. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 8. ed. St. Louis: Elsevier, 2017. Cap. 198. p. 2078-2099

PIEK, C.J. et al. Idiopathic Immune-Mediated Hemolytic Anemia: Treatment Outcome and Prognostic Factors in 149 Dogs. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [s.l.], v. 22, n. 2, p.366-373, mar. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0060.x>.

SHARKEY, L.C.; HILL, S.A. Structure of bone marrow. In: WEISS, D.J.; WARDROP, K.J. **Schalm's veterinary hematology**. Ames: Blackwell Publishing Ltd, 2010, cap. 2, p. 102-106.

SOARES J.F. Piropasmoses. In: JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 82. p. 2277-2328.

STOCKHAM, S.L., SCOTT, M.A. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, , 2011. 744p.

STOKOL, T. Anemia, Erythrocytosis. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C.; CÔTE, E. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 8. ed. St. Louis: Elsevier, 2017. Cap. 57. p. 740-749.

SWANN, J. W.; SKELLY, B. J. Evaluation of immunosuppressive regimens for immune-mediated haemolytic anaemia: a retrospective study of 42 dogs. **Journal of Small Animal Practice**, [s.l.], v. 52, n. 7, p.353-358, 2011. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01074.x>.

SWANN, James W. et al. ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, [s.l.], v. 33, n. 3, p.1141-1172, 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/jvim.15463>.

SWANN, James W et al. Randomised controlled trial of fractionated and unfractionated prednisolone regimens for dogs with immune-mediated haemolytic anaemia. **Veterinary Record**, [s.l.], v. 184, n. 25, p.771-771, 2019. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/vr.105104>.

THRALL, M. A. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 689-806.

TOCCI, J.T. Canine Recipient Screening In: YAGI, Kenichiro; HOLOWAYCHUK, Marie K. (Ed.). **Manual of veterinary transfusion medicine and blood banking**. Oxford: Willey Blackwell, 2016. 387 p.

WALKER, J.M. Component Therapy In: YAGI, Kenichiro; HOLOWAYCHUK, Marie K. (Ed.). **Manual of veterinary transfusion medicine and blood banking**. Oxford: Willey Blackwell, 2016. 387 p.

WILLARD, M.; TVEDTEN, H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 5. ed. Philadelphia: Saunders-Elsevier, 2012. 427 p.

ZVORC, Z. et al. **Erythrocyte and platelet indices in babesiosis of dogs**. Veterinarski Arhiv, v. 80, n. 2, p. 259-267, 2010.