

ANEMIAS REGENERATIVAS EN CANINOS Y FELINOS: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA I PARTE

REGENERATIVE ANEMIA IN DOGS AND CATS. A BIBLIOGRAPHIC REVISION. PART I.

**Carla F. Scodellaro, M. Eugenia Pintos,
María Cecilia Stornelli, María Sandra
Arauz**

Servicio Central de Laboratorio de la
Facultad de Ciencias Veterinarias de la
Universidad Nacional de La Plata

La anemia es el descenso absoluto del hematocrito, la concentración de hemoglobina y el recuento de glóbulos rojos. El diagnóstico se basa en los datos obtenidos de la historia clínica, examen clínico y hallazgos de laboratorio. Los signos clínicos que sugieren la presencia de anemia están relacionados con la deficiencia en el transporte de oxígeno, el incremento en la eficiencia de la eritropoyesis y la reducción del trabajo cardíaco. La confirmación de los datos de laboratorio son muy necesarios ya que no todas las anemias se presentan con signología clínica evidente. La etiología de la causa de anemia debe ser evaluada ya que esta de por sí no constituye un diagnóstico. La clasificación de anemias de acuerdo a la respuesta de la médula ósea las divide en: 1) Anemias Regenerativas: en donde la médula responde activamente a la producción de eritrocitos. Los hallazgos de laboratorio se caracterizan por presentar policromasia y reticulocitosis. La presencia de regeneración sugiere una causa extramedular que indica una pérdida de sangre (hemorragia) o mecanismos de destrucción eritrocitaria (hemólisis) que tenga una duración de 2 a 3 días para manifestar la respuesta regenerativa en sangre. El examen de médula es raramente necesario en este tipo de anemia. 2) Anemias Arregenerativas: su presencia indica una inadecuada respuesta de la médula por desordenes primarios o secundarios en la misma. La policromasia y la reticulocitosis están ausentes. En estos casos se necesita un examen de médula ósea y otras pruebas bioquímicas

Anemia is an absolute decrease in the hematocrit, hemoglobin concentration and blood cell count. The diagnosis rests on information gained from historical, physical and laboratory findings. Clinical signs suggesting the presence of anemia are relative to decreased oxygen transport capacity and physiologic adjustments made to increase the efficiency of the erythron and reduce the work load on the heart. Laboratory confirmation is necessary because anemias do not always present diagnostical clinical signs. The etiology of all anemias should be identified where possible because the term "anemia" per se does not constitute a diagnosis. Classification according to bone marrow respond: 1) Regenerative anemia: the bone marrow is actively responding to the anemia by increasing its production of erythrocytes. The laboratory findings that denote regeneration are polychromasia, reticulocytosis. The presence of regeneration suggests an extra marrow cause it implies a blood loss or erythrocytes destruction mechanism that is of sufficient duration (2 to 3 days) for regenerative response to be evident in the blood. Bone marrow examination is rarely necessary to detect regeneration. 2) Its presence indicate an inadequate bone marrow response because of either a primary or secondary bone marrow disorder. Polychromasia and reticulocytosis are absent. Bone marrow examination is indicated and others biochemical determination for diagnosis.

Introducción

Las células sanguíneas tienen una vida media relativamente corta, por lo que deben ser producidas continuamente, para mantener su número en la sangre.

La formación de las células sanguíneas recibe el nombre de hematopoyesis. En el adulto, la hematopoyesis se desarrolla en la médula ósea.

Los progenitores de las plaquetas (trombopoyesis), hematíes (eritropoyesis), granulocitos (granulopoyesis) y monocitos (monopoyesis) realizan todo su proceso de crecimiento y diferenciación en la médula ósea, recibiendo el nombre en su conjunto de *mielopoyesis*. La producción de linfocitos se llama *linfopoyesis* y a diferencia de los que ocurre con los demás tipos celulares de la sangre, los linfocitos también se multiplican y diferencian fuera de la médula ósea.

Eritropoyesis

En condiciones normales la serie eritroblástica representa entre un 30 y 35 % de los elementos nucleados de la médula ósea. La secuencia madurativa de esta serie se inicia con el proeritroblasto, el cual da origen al eritroblasto basófilo, éste al eritroblasto policromatófilo, y eritroblasto ortocromatófilo (médula ósea), luego le sigue el reticulocito y por último el eritrocito maduro (estas células se observan en circulación).

Los cambios morfológicos que se experimentan durante su maduración se caracterizan por una notable disminución del tamaño nuclear de los eritroblastos, con condensación progresiva de la cromatina y desaparición de los nucléolos. El citoplasma evoluciona perdiendo la intensa basofilia propia de los estadios más jóvenes, y adquiere la acidofilia típica que le proporciona la hemoglobina en los estadios más maduros.

Las variaciones en la morfología de las células rojas pueden ocurrir en animales con diferentes estadios fisiopatológicos o en diversas enfermedades (20, 25).

La anemia aparece como una afección frecuente en perros y gatos, que posee origen primario o secundario a otro problema de base. Esta afección se caracteriza por el descenso absoluto del número de eritrocitos, concentración de hemoglobina y valor hematocrito por debajo del límite inferior del rango de referencia para la especie. Es así que cursa con la reducción de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a los tejidos en un nivel aceptable para el desarrollo adecuado de la función metabólica. La anemia es una manifestación clínica de un proceso de enfermedad, por lo tanto el éxito en el tratamiento se basa en la identificación del proceso morboso que la originó.

La médula responde a la anemia aumentando la producción de eritrocitos. La regeneración se denota por la presencia de policromasia, reticulocitosis, macrocitosis e hipocromía. La regeneración sugiere una causa extramedu-

lar de anemia, bien sea por pérdida de sangre (hemorragia) o bien destrucción de eritrocitos (hemólisis). Para detectar la regeneración, no es necesario realizar un estudio de la médula ósea, pero si se hace, observaremos una hiperplasia eritropoyética. La metodología más provechosa en la clasificación de la anemia es determinar si existe o no evidencia de respuesta medular en la sangre, esto comprende determinar si existe incremento en la cantidad absoluta de reticulocitos (1, 13).

El aumento de policromasia se presenta en este tipo de anemias porque muchos reticulocitos se tiñen de rojo azulado con los colorantes sanguíneos de rutina. Por el contrario los gatos con anemias leves pueden no liberar reticulocitos agregados desde la médula. Como éstos no contienen cantidades suficientes de ribosomas para impartir una coloración azulada al citoplasma, las anemias regenerativas leves felinas pueden carecer de policromasia en los extendidos sanguíneos coloreados (1, 19).

El aumento de la anisocitosis se debe a la presencia de grandes cantidades de eritrocitos inmaduros, aunque también puede ser marcada en anemias arregenerativas.

Los cuerpos de Howell-Jolly a menudo se presentan en anemias regenerativas, son remanentes nucleares que aparecen tanto en eritropoyesis acelerada o tras una esplenectomía (27, 30).

La presencia de reticulocitosis compensatoria indica que la anemia se origina ya sea por hemorragia o por un incremento en la destrucción de los eritrocitos. Varios factores deben ser recordados cuando se interpreta la magnitud de la respuesta reticulocitaria. Los animales con un hematocrito reducido deberían tener porcentajes de reticulocitos más elevados. El primer motivo es porque cuando la anemia es más marcada, provoca un mayor estímulo para incrementar la producción de eritrocitos. Segundo, los animales con anemias más intensas tienen recuentos inferiores de eritrocitos (1, 8, 10).

Dado que los recuentos de reticulocitos son medidos como un porcentaje de los eritrocitos totales, el porcentaje reticulocitario (P.R.) será más elevado en un animal anémico que en otro normal, incluso, si es similar la cantidad absoluta de reticulocitos circulantes. En consecuencia, se recomendó determinar el recuento de reticulocitos absolutos o que el valor de P.R. sea corregido por el hematocrito en relación con el valor de referencia promedio para la especie obteniéndose el porcentaje de reticulocitos corregido (P.R.C.). Por último en la anemia pronunciada, los reticulocitos pueden ser liberados desde la médula con menor desarrollo que lo normal, estos reticulocitos de “estrés” voluminosos en apariencia se mantienen en la circulación más tiempo que otros reticulocitos antes que la maduración se complete. Por lo tanto el PRC es ajustado nuevamente dividiéndolo por el lapso de vida probable en días en circulación denominándose índice reticulocitario (I. R.). Así se expresa en el canino para diferenciar las anemias

regenerativas (I.R > 2) de las anemias arregenerativas (I.R. <2). En el caso de los felinos es muy difícil determinar el lapso de vida de los reticulocitos es por ello que en esta especie se expresa como P.R.C. (10, 13,19).

Clasificación de las anemias regenerativas

Anemias hemorrágicas

La pérdida de sangre se puede producir en forma aguda debido a traumas; cirugías; deficiencias en la coagulación ya sea por deficiencia de vitamina K, intoxicación con raticidas, coagulación intravascular diseminada o deficiencias hereditarias de factores coagulantes; o bien en forma crónica debido a parásitos; hemorragias gastro-intestinales o cavitarias; neoplasias gástricas incluyendo carcinomas, leiomiomas, carcinomas de células de transición de la vejiga urinaria y hemangiosarcoma con sangrado dentro de cavidades corporales y tejidos (Figura 1)(9, 13, 19, 21, 27).

En la pérdida aguda de sangre solo se puede valorar el grado de anemia transcurridas 12-24 horas (es cuando hay pase de líquido extravascular a la circulación), ya que al principio se pierden igual cantidad de elementos formes y plasma, también se debe considerar que la contracción esplénica libera en forma compensatoria, importantes cantidades de eritrocitos a la circulación incrementando de forma temporal el hematocrito (1, 27).

Transcurridas 48-72 horas aparecen signos de regeneración eritrocitaria en el frotis sanguíneo teñido con May-Grundwal-Giemsa como policromasia, macrocitosis e hipocromía. Si el frotis es teñido con coloración supravital (Azul brillante de cresil) se observa un aumento del IR (caninos) o PRC (felinos). Estos signos alcanzan el máximo al cabo de una semana de haberse producido la hemorragia (1, 10).

En hemorragias externas la volemia total está reducida, pero el hematocrito y la concentración de proteínas en plasma son normales inmediatamente después de una hemorragia aguda sustancial, porque existe una pérdida balanceada de eritrocitos y plasma. Después de varias horas el hematocrito y las proteínas plasmáticas disminuyen porque el organismo moviliza el líquido desde los espacios extravasculares hacia la circulación intentando estabilizar la volemia. Si no hay hemorragia adicional la concentración plasmática de proteínas se normalizará dentro de los 5 a 7 días. En consecuencia la concentración plasmática de proteínas reducida con anemia sugiere la existencia de una hemorragia reciente o activa (27, 30).

En las hemorragias crónicas, el valor hematocrito puede alcanzar un valor bajo antes de que el animal presente síntomas clínicos, puesto que el organismo tiene tiempo de adaptarse a la situación. Aparece también una respuesta medular regenerativa aunque menos intensa que en las pérdidas agudas. Debido a la cronicidad, las reservas de

hierro pueden acabarse y generar una anemia por carencia de hierro (33, 34).

Anemias hemolíticas

Pueden estar producidas por microorganismos (*Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma canis*, *Citauzoon felis*, *Babesia canis* y *Babesia gibsoni*), por daño oxidativo (cuerpos de Heinz), daños inmunomediados o hemólisis microangiopática (6).

Todas las formas de hemólisis causan una disminución de la vida media eritrocitaria y la anemia se desarrolla cuando la destrucción eritrocitaria supera a la demanda. Normalmente, la regeneración eritrocitaria (reticulocitosis) es mas pronunciada en la hemólisis respecto a la hemorragia (la hemólisis proporciona mas hierro para la producción de eritrocitos que la pérdida de sangre total) (1, 13, 20).

Las anemias hemolíticas pueden ser intra o extravasculares. Si bien la mayoría de las anemias son el resultado de una combinación de ambas, siempre hay uno que predomina siendo interesante conocer el lugar donde se produce la destrucción celular, puesto que esto orienta hacia la causa de la hemólisis (1, 20).

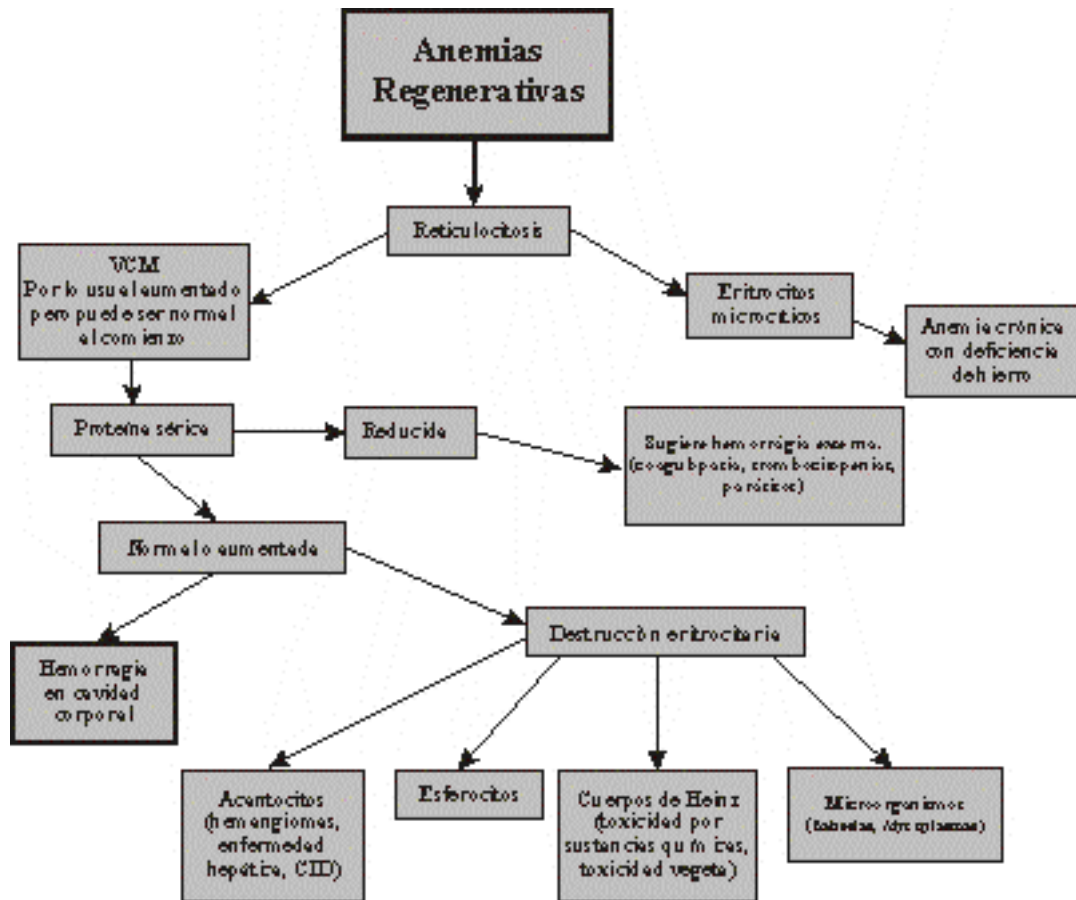
En la hemólisis intravascular, los eritrocitos son destruidos dentro de la circulación, liberando hemoglobina al plasma donde es eliminado bien por el hígado o bien es excretada por los riñones. Hay signos de regeneración que se observan al cabo de 2 a 3 días, hemoglobinemia, por la coloración rojiza del plasma y un aumento de la concentración media de la hemoglobina corpuscular, hemoglobinuria al cabo de 12 a 24 horas, cuando la cantidad de hemoglobina libre supera la haptoglobina disponible y se excede la capacidad de reabsorción tubular renal; hiperbilirrubinemia, si se excede la capacidad del hígado de eliminar la hemoglobina del plasma y excretarla por bilis.

Los disturbios donde a veces ocurre una hemólisis intravascular significativa incluyen anemias inmunomediadas en las que se involucran IgM, babesiosis, daño oxidativo y alteraciones microangiopáticas. En la mayoría estas condiciones, no obstante, la destrucción de los glóbulos rojos toma lugar primariamente mediante el incremento de la fagocitosis (1, 3, 20).

Daño oxidativo

En este caso la hemólisis se produce por una desnaturalización de la molécula de hemoglobina, que se produce por un fallo oxidativo en los eritrocitos, debido al desequilibrio entre el estrés oxidativo y los mecanismos antioxidativos (los eritrocitos se protegen de la exposición de los oxidantes diarios a través del glutatión reducido y de la metahemoglobina reductasa, que mantiene el hierro en un estado reducido, evitando la acumulación de la metahemoglobina) (22).

Figura 1. Algoritmo de anemias regenerativas



Esto produce la precipitación de la hemoglobina en forma de acúmulos denominados cuerpos de Heinz. El gato tiene la característica de tener un porcentaje relativamente alto en condiciones de normalidad (> 5%), esto obedece a que su molécula de hemoglobina tiene de 8 a 10 grupos sulfhídricos, en lugar de 4 como en el resto de las especies (22).

Las causas de formación de cuerpos de Heinz pueden ser farmacológicas, alimentarias (azul de metileno, vitamina K en altas dosis), cebolla, Zn, benzocaína, lidocaína, propileno glicol o bien estar asociada a otras enfermedades como ocurre en el gato (hipofosfatemia, cetoacidosis, hipertiroidismo, linfoma) (22).

Se producen como consecuencia de una coagulación intravascular diseminada, neoplasias vasculares, vasculitis o filarias. Los eritrocitos son escindidos debido a los bordes de fibrina depositada en los pequeños vasos. En las extensiones de sangre y ante la sospecha de ésta hay que buscar la presencia de fragmentocitos. (13, 19, 24).

Anemia hemolítica inmunomediada

Se produce por la fijación de anticuerpos y/o complemento a los antígenos de la membrana eritrocitaria. La eliminación de una parte de la membrana del eritrocito causa la formación de esferocitos, lo que disminuye la vida media circulante de éstas células. Se genera aglutinación que puede ser macro o microscópica por la unión de la Ig fijadas a la superficie eritrocitaria. (12, 20, 26)

Se presenta con más frecuencia en perros adultos y se caracteriza clínicamente por la presencia de una anemia de aparición aguda, debilidad, hemoglobinuria e ictericia (17).

Estas se pueden producir por:

- Medicamentos (cefalosporinas, trimetoprimas/sulfas).
- Anticuerpos producidos ante infecciones, que reaccionan de forma cruzada con ciertos antígenos eritrocitarios normales (28).
- Anticuerpos dirigidos frente a los antígenos propios, incluyendo la de los eritrocitos tras una estimulación inmune no específica.
- Anticuerpos frente a transfusiones incompatibles.

En las anemias hemolíticas extravasculares, los eritrocitos dañados son secuestrados a nivel de las células del sistema mononuclear fagocitario (SMF) del hígado y bazo, donde, en ocasiones éstas células eliminan parcialmente la membrana del eritrocito (fragmentos) y otras veces causan la destrucción total celular o acortan su vida media (15, 36, 37).

No se evidencia hemoglobinemia ni hemoglobinuria, hiperbilirrubinemia solo aparece cuando la magnitud de la hemólisis es suficiente como para exceder la capacidad del hígado de captar, conjugar y excretar la hemoglobina por el hígado. Puede aparecer esplenomegalia por la mayor actividad de los macrófagos y también por una hematopoyesis extramedular (20, 23).

Se asocia con:

- Problemas inmunomediados bien por Ac o por C3 (20).
- Agentes infecciosos (*Mycoplasma haemofelis*)
- Defectos intrínsecos de los eritrocitos.

Mycoplasma haemofelis: (*Haemobartonella felis*) (2, 14)

Son microorganismos que aparecen en forma de cocos, bacilos o formas de “donut” en la superficie del eritrocito, parcialmente enterrados en ella. En ocasiones en que la sangre a sido almacenada, refrigerada o expuesta mucho tiempo al anticoagulante puede causar el desprendimiento de éste microorganismo al realizar el frotis sanguíneo, lo cual puede interpretarse como ausencia del mismo, pero hay que tomar en consideración que la infección ocurre en forma intermitente y que frecuentemente está ausente en gatos con anemia aguda (32, 35).

Mycoplasma haemofelis puede ser causante de anemia hemolítica primaria o bien ser un agente oportunista que existe en gatos sanos y produce la enfermedad cuando el gato se estresa por otras enfermedades (5, 35).

En infecciones experimentales la anemia se desarrolla en el transcurso de varias semanas. La infección ocurre en

episodios cíclicos durante los cuales los eritrocitos infectados incrementan gradualmente por días para luego desaparecer rápidamente en el transcurso de varias horas. La repentina ausencia de la infección detectable es atribuida a la rápida eliminación de los eritrocitos por los macrófagos en el bazo, hígado y médula, lo cual contribuye a la anemia progresiva. Durante los períodos de infección mínima o ausente el hematocrito puede incrementar transitoriamente presumiblemente debido a la liberación esplénica de los eritrocitos secuestrados después de la remoción de los organismos por los macrófagos (7, 29).

Es también interesante la posible interrelación de la *Mycoplasma haemofelis* y el virus de la leucemia felina (11). Esta podría hacer aumentar la susceptibilidad del gato a los *Mycoplasmas* o hacer que una micoplasmosis latente se hiciera clínica.

En el perro *Mycoplasma canis* tan solo causa problemas cuando el animal está esplenectomizado y en perros que están recibiendo tratamientos con drogas inmunosupresoras (29). En estas circunstancias los perros son susceptibles a una infección latente preexistente o a una infección transmitida por una infección sanguínea. El *Mycoplasma canis* no es patógeno para perros que no estén esplenectomizados aún cuando han sido inoculados experimentalmente. La infección es persistente durante la fase aguda y usualmente es detectable en los frotis periféricos. En ellos se observan varios microorganismos dentro de cada eritrocito que pueden ser cocos o bacilos basofílicos (0,5 micrómetros de diámetro), que forman cadenas que se pueden ramificarse y formar acúmulos sobre la superficie del eritrocito.

Babesiosis canina

La *Babesia canis* y la *Babesia gibsoni* causan anemia hemolítica y trombocitopenia en perros y cánidos salvajes. La anemia se puede producir tanto por mecanismos extravasculares e intravasculares. La *B. canis* es grande con piroplasmas (3 x 5 micrómetros) que aparece como una inclusión oval a piriforme, en pares o cuádruples. En las tinciones de Romanowsky el piroplasma se observa con citoplasma levemente basofílico y un núcleo excéntrico. Los eritrocitos infectados tienden a concentrarse cerca del borde en forma de pluma del frotis y en los eritrocitos que se encuentran justo debajo de la capa flogística en el hematocrito. La sangre capilar colectada de la piel de la oreja contiene un porcentaje mayor de eritrocitos infectados que las muestras de sangre venosa. *B. gibsoni* es mucho más pequeña (1 x 3 micrómetros), con piroplasmas de apariencia redonda a piriforme que ocurren simples o en parejas (rara vez en forma tetrámero) en los eritrocitos; usualmente infecta a un porcentaje más bajo de eritrocitos que la otra especie, además que solo está presente en Asia, Egipto y EE. UU. (3, 16, 18, 22, 30)

Babesiosis felina

La *Babesia cati*, *B. felis*, *B. herpailuri*, *B. pantherae* afectan a los gatos domésticos y felinos salvajes, son pequeñas (1 x 2.5 micrómetros) que aparecen tanto en formas simples como piriformes. La hemoglobinuria y la ictericia son poco comunes. Es endémica para Sur América, África e India (3, 4).

Cytauxzoon felis

Es un protozoo sanguíneo con una etapa extraeritrocítica e intraeritrocítica, produce una anemia hemolítica fatal en el gato doméstico. En los frotis sanguíneos se observan uno a dos piroplasmas (1 X 2 micrómetros) en menos del 5% de los eritrocitos. Existen dos formas de anillos, los anillos redondos con núcleo excéntrico y otro de forma oblonga con núcleo bipolar. Produce una anemia no regenerativa, trombocitopenia, neutropenia con desvío a la izquierda degenerativo y se observa ictericia en los gatos antes de la muerte.

Se pueden observar macrófagos que contienen esquizontes y merozoitos en frotis sanguíneo, en médula, bazo, hígado y nódulos linfáticos (1, 30).

Conclusiones

La evaluación clínica del perro con anemia regenerativa sugiere una causa extramedular de anemia. La médula responde a la pérdida de eritrocitos (debido a hemólisis o hemorragias) regenerando una población de eritrocitos inmaduros (reticulocitos) de reemplazo. La presencia (> 2%) de reticulocitos en sangre es el método más simple y exacto para evaluar una eritropoyesis acelerada. Estos aparecen en la circulación a los 2-4 días de producirse la estimulación con un pico en producción a los 7-10 días. La regeneración también se manifiesta por la presencia de anomalías eritrocíticas como: policromasia, macrocitosis y/o hipocromía, anisocitosis, cuerpos de Howell-Jolly.

En cambio en la anemia arregenerativa existe una respuesta anormal de la médula ósea que no puede mantener la eritropoyesis. El fallo medular puede ser primario o secundario a causas extramedulares y quedar limitado a la serie eritroide o bien afectar a otras líneas celulares. La mayoría de las anemias arregenerativas en perros son de carácter crónico, permitiendo la adaptación fisiológica a la reducción de la masa eritrocitaria. Estos tipos de anemias pueden detectarse de manera incidental durante la evaluación rutinaria de un paciente que es asintomático para su propietario ya que en muchos casos la anemia es leve y la sintomatología escasa.

En general los eritrocitos en los perros con anemias arregenerativas son normocíticos y normocromicos

En consecuencia después de que se ha detectado la

presencia de anemia en el laboratorio a través de la evaluación del hemograma es imprescindible realizar el IR o el PRC en caninos o felinos respectivamente. Además deberíamos determinar las proteínas a través del refractómetro o métodos colorimétricos, pruebas de hemostasia, prueba de Coombs a efectos de facilitar el diagnóstico de la causa de anemia siempre teniendo en cuenta la historia clínica del paciente y los signos clínicos que presente y de esta manera instaurar un tratamiento adecuado.

Bibliografía

1. Aird B. Clinical and hematologic manifestations of anemia. In Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. (2000) Schalm's Veterinary Hematology ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p140-142. Ed Panamericana
2. Berent LM, Messick JB. Physical map and genome sequencing survey of *Mycoplasma hemofelis* (*Haemobartonella felis*). Infect. Immun. 2003 Jun; 71 (6):3657-62.
3. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitian FJ, Olmeda AS. *Babesia canis* infection in a splenectomized dog. Bull Soc Pathol Exot. 2002 Mar;95(1):17-9.
4. Camacho AT, Pallas E, Gestal JJ, Guitian FJ, Olmeda AS. Natural infection by a *Babesia microti*-like piroplasm in a splenectomized dog. Vet Rec. 2002 Mar 23;150(12):381-2
5. Carney HC, England JJ. Feline hemobartonellosis. Vet Clin North Am Small Anim Pract. 1993 Jan;23(1):79-90.
6. Day MJ. Serial monitoring of clinical, haematological and immunological parameters in canine autoimmune haemolytic anaemia. Small Anim Pract. 1996 Nov;37(11):523-34. Feldman BF, Handagama P, Lubberink AA. Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. Am Vet Med Assoc. 1985 Sep 15;187(6):617-9.
7. Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB. Anemia of inflammatory disease in the dog. Clinical characterization. Am J Vet Res 42: 1109, 1981.
8. Feldman BF, Kaneko JJ, Farver TB. Anemia of inflammatory disease in the dog: clinical characterization. Am J Vet Res. 1981 Jul;42(7):1109-13.
9. Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. (2000) Schalm's Veterinary Hematology
10. George JW, Rideout BA, Griffey SM, Pedersen NC. Effect of preexisting FeLV infection or FeLV and feline immunodeficiency virus coinfection on pathogenicity of the small variant of *Haemobartonella felis* in cats. Am J Vet Res. 2002 Aug;3(8):1172-8.
11. Gunn-Moore DA, Day MJ, Graham ME, Cue SM, Harbour DA. Immune-mediated haemolytic anaemia in two sibling cats associated with multicentric lymphoblastic infiltration. J Feline Med Surg. 1999 Dec;1(4):209-14
12. Haefner M, Burket TJ, Kitchell BE, Lamont LH, Schaeffer DJ, Behr M, Messick JB. Identification of *Haemobartonella felis* (*Mycoplasma haemofelis*) in captive nondomestic cats. J Zoo Wildl Med 2003 Jun; 34(2):139-43
13. Harvey JW, French TW, Meyer DJ. Chronic iron deficiency

anemia in dogs. JAAHA. 1982; 18:946-960.

14. Kohn B, Goldschmidt MH, Hohenhaus AE, Giger U. J. Anemia, splenomegaly, and increased osmotic fragility of erythrocytes in Abyssinian and Somali cats. *Am Vet Med Assoc.* 2000 Nov 15;217(10):1483-91
15. Lobetti RG, Reyers F, Nesbit JW. J S. The comparative role of haemoglobinaemia and hypoxia in the development of canine babesial nephropathy. *Afr Vet Assoc.* 1996 Dec;67(4):188-98
16. McManus PM, Craig LE. Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). *J Am Vet Med Assoc.* 2001 Apr 15;218(8):1308-13. Meinkoth JH, Kocan AA, Loud SD, Lorenz MD. Clinical and hematologic effects of experimental infection of dogs with recently identified *Babesia gibsoni*-like isolates from Oklahoma. *J Am Vet Med Assoc.* 2002 Jan 15;220(2):185-9
17. Meyer-Harvey. *El Laboratorio en Medicina Veterinaria.* (2000)
18. Mills JN, Day MJ, Shaw SE, Penhale WJ. Autoimmune hemolytic anaemia in dogs. *Aust Vet J.* 1985 Apr;62(4):121-3
19. Nelson RW, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine.* 2nd ed. Mosby, (1998).pp 1161-1173.
20. Otsuka Y, Yamasaki M, Yamato O, Maede Y. The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in *Babesia gibsoni*-infected dogs with low parasitemia. *J Vet Med Sci.* 2002 Mar;64(3):221-6
21. Paltrinieri S, Comazzi S, Agnes F. J. Haematological parameters and altered erythrocyte metabolism in anaemic dogs. *Comp Pathol.* 2000 Jan;122(1):25-34
22. Paltrinieri S, Sartorelli P, De Vecchi B, Agnes F. Metabolic findings in the erythrocytes of cardiopathic and anaemic dogs. *Istituto di Patologia Generale Veterinaria, Milano, Italy. J Comp Pathol.* 1998 Feb;118(2):123-33
23. Reagan WJ, Sanders TG, DeNicola DB. *Veterinary Hematology. Atlas of Common Domestic Species.* First edition, 1998. Ed Iowa State Press.
24. Reimer ME, Troy GC, Warnick LD. J. Immune-mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). *Am Anim Hosp Assoc.* 1999 Sep-Oct;35(5):384-91.
25. Schalm OW. Morphologic classification of anemias: *Vet. Clin. Pathol.* 1978; 7:6-8.
26. Stokol T, Blue JT, French TW. J. Idiopathic pure red cell aplasia and nonregenerative immune-mediated anemia in dogs: 43 cases (1988-1999). *Am Vet Med Assoc.* 2000 May 1;216(9):1429-36
27. Sykes JE, Bailiff NL, Ball LM, Foreman O, George JW, Fry MM. Identification of a novel hemotropic mycoplasma in a splenectomized dog with hemic neoplasia. *JAM Vet Med Assoc* 2004 Jun 15; 224(12):1946-51, 1930-1.
28. Thomford J, Yamane I, Whiting J, Bosma L, Uno T, Holshuh HJ, Shelly S. J Hemolytic anemia caused by *Babesia gibsoni* infection in dogs. Conrad P, *Am Vet Med Assoc.* 1991 Sep 1;199(5):601-5
29. Tyler RD, Cowell RL. Classification and diagnosis of anemia. *Comp Haematol Int* (1996)6:1
30. VanSteenhouse JL, Taboada J, Dorfman MI. Hemobartonella felis infection with atypical hematological abnormalities. *Am Anim Hosp Assoc.* 1995 Mar-Apr;31(2):165-9
31. Weiss DJ, Klausner JS. Drug-associated aplastic anemia in dogs: eight cases (1984-1988). *J Am Vet Med Assoc.* 1990 Jan 1; 196(1):96-9
32. Weiss DJ. Aplastic anemia. In Feldman, B. F.; Zinkl, J. G.; Jain, N. C. (2000) *Schalm's Veterinary Hematology* ed 5 Lippincott Williams & Wilkins p 212-215. Ed. Panamericana
33. Westfall DS, Jensen WA, Reagan WJ, Radecki SV, Lappin MR. Inoculation of two genotypes of *Hemobartonella felis* (California and Ohio variants) to induce infection in cats and the response to treatment with azithromycin. *Am J Vet Res.* 2001 May;62(5):687-91
34. Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. (1993) *Diagnóstico Clinicopatológico Práctico en los animales pequeños.* Inter-médica, pp. 39-61
35. Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH. (1994) *Small animal clinical diagnosis bay laboratory methods.* 2nd Ed. Saunders