

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO**

**Graduação em Medicina Veterinária**

**Bruna de Moraes Massagardi**

**TROMBOCITOPENIA IMUNOMEDIADA**

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

**SÃO PAULO**

**2017**

**Bruna de Moraes Massagardi**

**TROMBOCITOPENIA IMUNOMEDIADA**

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária. Orientadora: Simone Gonçalves Rodrigues Gomes.

**SÃO PAULO**

**2017**

**Bruna de Moraes Massagardi**

**TROMBOCITOPENIA IMUNOMEDIADA**

**REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Trabalho de Conclusão de Curso Apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária. Orientadora: Simone Gonçalves Rodrigues Gomes.

São Paulo, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

**Prof. Dr. (a):**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Prof. Dr. (a):**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Prof. Dr. (a):**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Conceito Final**

## **AGRADECIMENTOS**

Chegou a hora de agradecer todos os envolvidos para que eu pudesse chegar até aqui, todos que de alguma forma puderam participar dessa minha trajetória.

Começo sendo muito grata aos meus pais Nelson e Janete, por sempre me apoiarem nas minhas escolhas, nunca influenciando mas sempre estimulando a fazer o que eu queria. Depois aos meus tios Sueli e José Divino, que durante todo meu desenvolvimento escolar participaram de alguma forma do meu crescimento. Claro que também aos meus três cães Nate, Lost e Joana, que me fizeram despertar todo esse interesse pela saúde animal. E todos os outros que passaram pela minha vida.

Agradeço a toda equipe da Universidade de Santo Amaro, que favorecem esse crescimento acadêmico, principalmente os professores de Medicina Veterinária que me deram aula ao longo desses cinco anos. Um obrigada especial à minha professora e orientadora Simone, que aguentou muita coisa da minha parte, pois eu confesso que começar este trabalho foi muito difícil, mas com sua ajuda, foi tudo mais fácil e as coisas se tornaram mais suaves.

Aos colegas de faculdade, principalmente os mais próximos, obrigada por serem pessoas tão legais comigo, foi um prazer conhecê-los e espero muito poder trabalhar com vocês no futuro. Agradeço também pelas amizades de todos aqueles que não são da faculdade, mas eu conheci por conta dela. E aos colegas clínicos, obrigada pelas oportunidades que me deram, pelos conhecimentos que me passaram e pelas broncas, pois são os acertos, os erros e as correções que fazem de mim quem eu sou hoje e espero me tornar uma excelente profissional como vocês.

E lembrar que houveram muitas pessoas que colocaram empecilhos, dizendo que eu não conseguiria, que eu perderia minha bolsa, mas eu quero dizer que quando você quer algo e corre atrás, você sempre conquista. A ideia é nunca desistir.

## RESUMO

A trombocitopenia imunomediada (TIM) é a causa mais comum de trombocitopenia grave em cães. Ela é uma doença onde o sistema imunológico produz anticorpos direcionados às próprias plaquetas, levando a destruição das mesmas. A TIM pode ser primária quando os anticorpos são direcionados contra antígenos de superfície das plaquetas normais circulantes ou secundária às infecções bacterianas, protozoários, drogas, neoplasia e vacinal. As principais manifestações clínicas são petéquias, equimoses, hematoma, hematuria, hematoquezia, epistaxe e, mais raramente, hemorragia cerebral e pulmonar. O diagnóstico é baseado na contagem plaquetária detectada no hemograma excluindo outras causas possíveis de trombocitopenia para assim, podermos relacionar à afecção autoimune. O tratamento é baseado em terapia imunossupressora com glicocorticoides, ciclosporina, micofenolato, leflunomida e imunoglobulina intravenosa humana. O acompanhamento clínico e laboratorial do paciente é muito importante para um resultado efetivo. A trombocitopenia imunomediada pode ser recidivante dependendo da individualidade de cada paciente.

**Palavras-chave:** trombocitopenia imunomediada, destruição, plaquetas, autoimune, cães.

## **ABSTRACT**

Immune-mediated thrombocytopenia (IMT) is a more common cause of severe thrombocytopenia in dogs. It is a disease where the immune system produces antibodies directed to the plates themselves, leading to a destruction of themselves. TIM may be primary when antibodies are directed against surface antigens from normal platelets circulating or secondary to bacterial, protozoal, drug, neoplastic, and vaccine. The main clinical manifestations are petechiae, ecchymosis, hematoma, hematuria, hematochezia, epistaxis and, more rarely, cerebral and pulmonary hemorrhage. The diagnosis is based on the platelet count detected with a blood count, excluding other possible causes of thrombocytopenia, so that we can relate to the autoimmune condition. Treatment is based on immunosuppressive therapy with glucocorticoids, cyclosporine, mycophenolate, leflunomide and human intravenous immunoglobulin. Clinical and laboratory follow-up of the patient is very important for an effective outcome. Immune-mediated thrombocytopenia may be relapsing depending on the individuality of each patient.

**Keywords:** immune-mediated thrombocytopenia, destruction, platelets, autoimmune, dogs.

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....                                 | <b>8</b>  |
| <b>2. FISILOGIA DA FORMAÇÃO DAS PLAQUETAS</b> .....        | <b>9</b>  |
| 2.1 Trombopoiese .....                                     | 9         |
| 2.2 Megacariócitopoiese .....                              | 9         |
| 2.3 Produção de Plaquetas .....                            | 10        |
| 2.4 Plaquetas .....  | 10        |
| 2.5 Quantidade .....                                       | 11        |
| 2.6 Destruição .....                                       | 12        |
| <b>3. TROMBOCITOPENIA</b> .....                            | <b>12</b> |
| 3.1 Trombocitopenia Imunomediada Primária .....            | 13        |
| 3.2 Manifestações Clínicas .....                           | 14        |
| 3.3 Diagnóstico .....                                      | 14        |
| 3.4 Testes para Anticorpos Antiplaquetários .....          | 16        |
| 3.5 Terapia .....  | 17        |
| 3.6 Prognóstico .....                                      | 21        |
| 3.7 Trombocitopenia Imunomediada Secundária .....          | 21        |
| <b>4. DOENÇAS AUTOIMUNES SISTÊMICAS</b> .....              | <b>22</b> |
| <b>5. OUTRAS AFECÇÕES QUE CAUSAM TROMBOCITOPENIA</b> ..... | <b>23</b> |
| 5.1 Bacterianas .....                                      | 23        |
| 5.2 Virais .....   | 23        |
| 5.3 Vacinas .....  | 23        |
| 5.4 Protozoários .....                                     | 24        |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>5.5 Drogas .....</b>                    | <b>24</b> |
| <b>5.6 Neoplasias .....</b>                | <b>24</b> |
| <b>6. CONCLUSÃO .....</b>                  | <b>25</b> |
| <b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b> | <b>26</b> |



## INTRODUÇÃO

A trombocitopenia imunomediada é o distúrbio hemostático mais comum em cães. Nesta afecção o sistema imunológico causa a destruição de suas próprias plaquetas, direcionando anticorpos, principalmente IgG que se ligam à superfície das mesmas.

As raças mais acometidas de cães são os Cockers, Poodles, Pastores Alemães e Old English Sheepdogs, dentre estes, as fêmeas de meia idade são as mais frequentemente diagnosticadas, mesmo que esta afecção tenha relação específica à raça, sexo ou idade.

Dependendo da etiologia, a TIM pode ser classificada em primária que denominamos TIM primária ou idiopática e, secundária que é causada por outras doenças de base como em quadros de erliquiose, babesiose, leishmaniose, entre outras doenças infecciosas e virais. Outras causas também são comuns e levam à um quadro de trombocitopenia, como no uso de algumas drogas ou neoplasias.

Hoje há uma evolução grande dos medicamentos utilizados para tratamento imunossupressor, estudos mostram que novas utilizações de Micofenolato, Romiplostim e Leflunomida, por exemplo, tem tido resultados satisfatórios nos tratamentos da TIM.

A proposta deste trabalho é documentar a revisão bibliográfica da trombocitopenia imunomediada em cães.

## 2. FISILOGIA DA FORMAÇÃO DE PLAQUETAS

### 2.1 Trombopoiese

A trombopoiese é a formação das plaquetas e é induzida pela trombopoietina que estimula todos os estágios da megacariocitopoiese e maturação. Assim como aumentam os megacariócitos, aumentam as plaquetas. Elas também são estimuladas em menor grau pelas interleucinas e eritropoietina. Segundo Rebar (2003) e Norris (2004) a trombopoietina é sintetizada no fígado, endotélio vascular e fibroblastos, mas principalmente onde ocorre hematopoiese, que é na medula óssea e baço.

### 2.2 Megacariocitopoiese

A trombopoietina é responsável por regular, a partir das células tronco pluripotentes, o desenvolvimento dos megacariócitos e partir destes, as plaquetas são produzidas na medula óssea. As plaquetas se desprendem dos megacariócitos por fragmentação citoplasmática ou pela constrição dos pseudópodes citoplasmáticos e são liberadas diretamente na circulação sanguínea <sup>1</sup>.

A regulação da megacariocitopoiese supõe – se que é feita por uma única molécula que regularia essa produção de plaquetas. Vários aspectos estão envolvidos nessa regulação, dentre eles, quantidade de megacariócitos maduros, taxa de maturação deles e o tamanho plaquetário. Há outros fatores de crescimento como as interleucinas (IL-3), (IL-6) e (IL-11), trombopoietina (TPO), Fator-3 ligante e Fator Estimulador de Célula-Tronco (FE-CT) envolvidos. O entendimento relativo dessa regulação humoral permite o uso clínico desses fatores no tratamento da trombocitopenia <sup>2</sup>.

A trombopoietina influencia na produção dos megacariócitos de três diferentes formas: estimulando a diferenciação de células tronco; induzindo endomitoses nos megacariócitos imaturos o que aumenta o volume celular; e diminuindo o tempo de maturação dos megacariócitos <sup>1</sup>.

A relação da trombopoietina circulante e os níveis de plaquetas são inversamente proporcionais<sup>1</sup>. Significa que a megacariocitopoiese é regulada pelo número de plaquetas circulantes por meio de feedbacks positivo e negativo, ou seja,

a trombocitopenia é um fator estimulante para megacariocitopoiese, enquanto a trombocitose inibe esse mecanismo.

### **2.3 Produção das Plaquetas**

As plaquetas são produzidas na medula óssea a partir do processo da megacariocitopoiese. Oriundo da esfoliação do citoplasma dos megacariócitos <sup>1</sup>. Da mesma forma que a regulação da formação das plaquetas é bem estabelecida, o mecanismo de como elas são formadas não é bem definido <sup>2</sup>.

Há diversos modos de formação das plaquetas, podem ser pela fragmentação do citoplasma dos megacariócitos, onde é observado em estudos *in vivo*, a projeção de pseudópodes atravessando o endotélio da medula óssea e propagação nos espaços vasculares, a extensão de seu citoplasma e sua segmentação em botões arredondados na superfície <sup>2</sup>.

As fragmentações podem ocorrer na medula óssea e depois são liberadas. Dois terços a três quartos das plaquetas do cão estão na circulação sistêmica pulmonar, o restante é armazenado no compartimento esplênico, elas se alternam livremente entre esses dois locais <sup>1</sup>.

### **2.4 Plaquetas**

As plaquetas são células anucleadas, discóides ou esféricas dependendo da espécie, importantes na manutenção da hemostasia normal e da integridade vascular. O número de plaquetas na circulação é constantemente restabelecido em um animal sadio <sup>1</sup>. Elas fazem parte da fase inicial do reparo tecidual, produzindo e liberando fatores de crescimento como fator de crescimento derivado das plaquetas (FCDP). A rápida interação célula a célula e a liberação de mediadores solúveis estimulam a mitose das células da musculatura lisa e fibroblastos. Por esse motivo, também desempenham um papel fundamental no processo inflamatório, elas liberam substâncias vasoativas capazes de modular a função dos neutrófilos, como a serotonina <sup>1</sup>.

Norris (2004) descreve que mesmo de um tamanho pequeno, as plaquetas têm um arranjo complexo de proteínas transmembranas, que fazem parte da ativação, adesão plaquetária e da coagulação, também possuem muitas organelas e

redes extensas de filamentos do citoesqueleto. As membranas das plaquetas são compostas de glicoproteínas, o mais conhecido *glicocálix*, pertencentes às famílias das integrinas, glicoproteínas ricas em leucinas, imunoglobulinas e selectinas. As integrinas são responsáveis pela adesão e agregação plaquetária no quadro de hemostasia.

O processo fisiológico de destruição plaquetária ocorre no sistema fagocítico mononuclear do fígado ou baço e é diretamente ligado ao tempo de vida útil das plaquetas que normalmente é em torno de 5 a 7 dias nos cães, mas a destruição por outros motivos também podem ocorrer <sup>1</sup>.

O tamanho normal de uma plaqueta do cão é de 2,2 a 3,7 micrômetros de diâmetro e 0,5 micrômetros de espessura, equivalente a mais ou menos 1/10 do tamanho dos eritrócitos. Normalmente as plaquetas jovens são maiores, denominadas de megatrombócitos. É comum observarmos as plaquetas isoladamente, porém também podemos observar pequenos grupos.

Já em casos anormais, quando ativadas, as plaquetas dos cães podem formar pequenos pseudópodes citoplasmáticos, levando a um formato aracniforme, com pequenas agregações e grandes massas, normalmente são encontradas na cauda do esfregaço sanguíneo. Microplaquetas, quando em predominância, indicam um processo precoce imunomediado. Anisocitose e muitas macroplaquetas sugerem a liberação precoce na circulação de plaquetas jovens, comum nas trombocitopenias regenerativas. Muitas plaquetas alongadas sugerem hemorragia local ou generalizada. Plaquetas com poucos grânulos em grande volume sugerem problemas em medula óssea <sup>1</sup>.

Para Rebar (2003), nos gatos sadios as plaquetas são morfologicamente parecidas com as de outros animais domésticos, nos casos anormais, plaquetas com poucos grânulos ou grânulos em grande volume sugerem problemas em medula óssea e formatos alongados ou macroplaquetas podem ser observados em animais não-trombocitopênicos.

## **2.5 Quantidade**

É uma contagem normal, tanto para os cães quanto para gatos de 10 a 12 plaquetas por campo. Para cães a concentração aproximada é de 200.000 a

600.000 plaquetas/uL. Para gatos esse valor é um pouco maior, de 300.000 a 800.000/uL, estes quando em estado de excitação, pode haver o aumento repentino das plaquetas <sup>1</sup>.

Como as plaquetas dos gatos são mais predispostas a agregação, isso leva à uma baixa contagem em contadores automáticos, podem haver confusão dessas plaquetas com leucócitos, o que vai levar a uma leucocitose errônea <sup>1</sup>.

Muitos relatórios clínicos e tutores referem que cães da raça Akita têm persistente contagem plaquetária baixa. Estudos feitos com cães dessa raça indicam essa predominância, então conclui-se que é uma característica da raça <sup>3</sup>. Outros estudos indicam essas mesmas características em outras raças de cães como o Cavalier King e Greyhound (conhecido no Brasil como Galgo) <sup>4</sup>.

## **2.6 Destruição**

É fisiológica a destruição das plaquetas “velhas”, por isso a meia vida intravascular das plaquetas é variável entre 3 a 7 dias no cão e gato. Os macrófagos do sistema monocítico fagocitário fagocitam essas plaquetas. E segundo Rebar (2003, p. 134), “A presença de anticorpos antiplaquetários acelera a destruição das plaquetas pelos macrófagos, levando ao desenvolvimento de trombocitopenia imunomediada”.

## **3. TROMBOCITOPENIA**

A trombocitopenia é traduzida pela queda da contagem de plaquetas no sangue. Essa queda do número normal de plaquetas circulantes pode estar associada a vários fatores como: diminuição da produção, aumento da destruição, consumo aumentado ou sequestro <sup>1</sup>.

Em gatos, a trombocitopenia causada pela diminuição da produção de plaquetas é a causa mais frequente, principalmente pelo fato de que os felinos são mais acometidos por retrovírus, que são responsáveis por elevados índices de distúrbios de medula óssea <sup>5</sup>.

Já para os cães, a trombocitopenia é a representante mais comum dos sangramentos espontâneos. Pode ocorrer quando o animal atinge menos de 30.000 plaquetas/uL<sup>6</sup>. As formas mais comuns capazes de provocar essa alteração é a destruição imunomediada, destruição relacionada ao uso de drogas ou vacinas e os quadros de sepse<sup>5</sup>.

Causas comuns de produção diminuída de plaquetas são hipoplasia megacariocítica imunomediada, aplasia de medula óssea, hipoplasia megacariocítica induzida por fármacos e infecção retroviral. Já em casos de aumento de destruição, sequestro ou consumo de plaquetas podem ser por conta da trombocitopenia imunomediada, vacinal ou induzida por fármacos, também em casos de coagulação intravascular disseminada, esplenomegalia, torção esplênica, endotoxemia, necrose hepática aguda ou neoplasia. E dentre estas, a destruição acelerada é a mais comum em cães. Isso pode ocorrer por conta da trombocitopenia imunomediada (TIM), que é classificada em primária e secundária<sup>5</sup>.

### **3.1 Trombocitopenia Imunomediada Primária**

A TIM primária pode ser também denominada idiopática e é resultado de anticorpos direcionados contra antígenos de superfície das plaquetas normais circulantes<sup>7</sup>. A TIM canina é análoga à TIM humana, tanto na contagem plaquetária, quanto no fenótipo hemorrágico dos indivíduos afetados<sup>8</sup>.

Ela pode ocorrer sozinha ou concomitantemente a outras doenças imunomediadas como a anemia hemolítica imunomediada (AHIM)<sup>7</sup>.

Geralmente, pacientes com contagem plaquetária maior que 50.000 plaquetas são assintomáticos<sup>9</sup>. Abaixo desta contagem, pode ocorrer sinais clínicos como sangramentos de mucosas, pele e trato gastrointestinal<sup>5</sup>.

Um estudo mostrou que fêmeas caninas de meia idade foram mais acometidas pela TIM do que machos<sup>10</sup>, mesmo sabendo que não é uma doença relacionada ao sexo ou idade. Norris (2004) e Couto (1994), relatam uma predisposição racial em poodles, pastores alemães, old english sheepdogs e cocker spaniels.

A trombocitopenia imunomediada ocorre devido a ligação de anticorpos anti-plaquetários na superfície das plaquetas, resultando na destruição prematura pelos macrófagos <sup>2</sup>. Também pode haver formação de anticorpos contra os megacariócitos e o bloqueio da trombopoiese <sup>5</sup>.

### **3.2 Manifestações Clínicas**

Os sinais clínicos podem aparecer com pelo menos 3 dias, mas também podem ser inaparentes por meses. Estão comumente relacionados aos defeitos de hemostasia podendo ocorrer em contagens plaquetárias menores que 50.000 plaquetas/ $\mu$ L.

As principais manifestações clínicas são equimose e petéquias. Os sinais de sangramento geralmente ocorrem em locais de alta pressão como no abdômen, mucosas oral e genital, axilas e região inguinal, hifema ou hemorragia subretinal, sangramentos gastrintestinais levando a melena, hematoquezia e hematêmese, podendo ocorrer hematúria, letargia, taquipnéia e até sinais em SNC <sup>7</sup>.

Um estudo mostrou que animais que apresentam melena como sinal clínico tem uma sobrevivência menor e maior chance de precisar de transfusão sanguínea durante o tratamento hospitalar, ou seja, um prognóstico ruim. No mesmo estudo, foi observado que animais que apresentaram aumento do valor de uréia nos testes bioquímicos durante a entrada ao hospital, que está relacionado às disfunções renais, também obtiveram pior prognóstico e um menor tempo de sobrevivência <sup>10</sup>.

Se houver um sangramento marcado considerado abaixo de 30.000 plaquetas/ $\mu$ L o animal pode entrar em choque, porém se não houver anemia pronunciada, o animal será praticamente assintomático, sendo relatados alguns casos de êmese pelos tutores. Para sugerir o diagnóstico, lembrar que ao exame físico, o animal apresentará uma esplenomegalia em conjunto com os outros sinais de hemorragia <sup>5</sup>.

### **3.3 Diagnóstico**

O diagnóstico deve ser feito por exclusão. Se houver anemia, sugere uma doença concomitante. Descartar aumento do consumo ou sequestro por coagulação intravascular disseminada (CID), hemorragia aguda ou profunda e torção esplênica.

Neoplasias podem estar acompanhadas de linfadenomegalia, esplenomegalia e caquexia. Outras doenças imunomediadas sistêmicas podem ser sugestivas pela presença de poliartrites e processos dermatológicos. A presença de esplenomegalia sugere que a trombocitopenia é um processo secundário <sup>2</sup>.

Segundo Meeking (2013), animais com TIM apresentam hemograma caracterizado por trombocitopenia marcante, em geral menos que 50.000 plaquetas/uL. Pode haver leucocitose com desvio à esquerda, com ou sem anemia, isso vai depender se há quadro de AHIM e sangramento concomitante <sup>5</sup>.

Exceto em casos que o distúrbio de consumo de plaquetas é evidente, é indicado o aspirado de medula óssea, principalmente quando há múltiplos casos de citopenias envolvidas, ou suspeita de leucemia, mieloma múltiplo ou qualquer desordem mieloproliferativa.

Hiperplasia megacariocítica é típica de TIM, mas não em todos os casos. Hipoplasia megacariocítica pode ocorrer em alguns casos de TIM se por acaso os anticorpos estiverem direcionados contra precursores dos megacariócitos, o que levará a um prognóstico ruim, com menor resposta à terapia imunossupressora <sup>7</sup>.

Autores como Meeking (2013) e Tilley (2008) corroboram a ideia de que não é relatado nenhuma alteração em perfil bioquímico que reflita esta doença.

O coagulograma e urinálise só devem ser feitos se for para excluir uma possível coagulopatia de consumo ou mesmo outras doenças, pois estes valores estarão normais na TIM <sup>7, 11</sup>.

Exames de imagem como o ultrassom e o raio-x revelam apenas alterações em baço e possível presença de massas neoplásicas. Quando os achados são sugestivos de septicemia potencial, pode se fazer uma cultura de sangue <sup>7, 11</sup>.

Já a sorologia e o PCR podem ser utilizados em casos suspeitos de riquetsias e doenças virais, dentre elas as mais comuns em cães são as erliquioses, bartoneloses, febre maculosa das montanhas rochosas e em gatos são as virais FIV, FeLV, concomitantes ou não com erliquiose <sup>7, 11</sup>.



### **3.4 Testes para anticorpos antiplaquetários**

Pode ser difícil confirmar um caso de TIM primária, porque hoje os testes que diagnosticam os anticorpos antiplaquetários são realizados apenas em laboratórios especializados, por isso o diagnóstico é frequentemente feito a partir da exclusão das possíveis causas de TIM secundária e devida resposta positiva à imunossupressão<sup>9</sup>.

O teste para Fator 3 Plaquetário (FP3) confirma a presença de anticorpos direcionados contra as membranas das plaquetas. Este é um teste funcional indireto com baixa sensibilidade, cerca de 28%, uma vez que as lesões das membranas plaquetárias causadas pelos anticorpos, fazem com que haja a liberação desse FP3<sup>9</sup>.

Testes imunoenzimáticos como o ELISA e a fluxocitometria mensuram os anticorpos, contudo, esses testes mostram ter muita variação na sensibilidade e especificidade. Os anticorpos de superfície das plaquetas podem ser mensurados direta ou indiretamente associando a mensuração dos anticorpos séricos. Os testes diretos tem uma sensibilidade melhor cerca de 94% enquanto os testes indiretos tem cerca de 34%<sup>12</sup>.

A razão para essa discrepância é que a maioria dos anticorpos antiplaquetários estão ligados às superfícies das plaquetas e não livres na circulação. Este teste também não é altamente específico, pois as plaquetas vinculadas aos anticorpos podem ser os próprios autoanticorpos produzidos pelo sistema imunológico do animal, como nos casos de TIM, podem ser imunocomplexos ou mesmo anticorpos associados a antígenos externos que foram adsorvidos pelas superfícies das plaquetas. A dificuldade na avaliação do teste se deve ao fato de que o resultado positivo pode ser observado com ambos casos de TIM primária ou em condições que levem à trombocitopenia por TIM secundária<sup>12</sup>.

Segundo White (2012), teste direto oferece a vantagem de ter uma sensibilidade melhorada por isso é mais indicado e utilizado. Ambos testes podem dar negativos se seguidas as terapias adequadas. O teste de anticorpos antiplaquetários vem sendo utilizado para o diagnóstico de TIM primária e secundária em gatos. Anticorpos contra os megacariócitos podem ser mensurados

utilizando a imunofluorescência a partir da citologia da medula óssea e também pode ser utilizada para diagnósticos de TIM primária em gatos.

Um falso positivo para todos esses diagnósticos podem resultar de um erro ou reação cruzada com outros anticorpos séricos. E um falso negativo pode ser observado em casos de erros, excesso de anticorpos antiplaquetários normais, número insuficiente de plaquetas, ou falta de ligação de anticorpos do soro nas plaquetas heterólogas. Sendo assim, todos esses testes são incapazes de diferenciar a TIM primária da secundária e são realizados por poucos laboratórios especializados<sup>9</sup>.

Foram realizados estudos para identificar diferenças nos genes dos animais com e sem TIM, para que assim pudessem encontrar um alelo específico da TIM e utilizá-lo para realizar testes efetivos de anticorpos antiplaquetários, porém, não foi identificado diferenças nos alelos desses dois grupos, mas isso pode ter sido devido a baixa quantidade de animais estudados ou mesmo as glicoproteínas de membranas que foram pesquisadas, que podem não ser o alvo dos autoanticorpos<sup>13</sup>.

### **3.5 Terapia**

Levando em consideração que a TIM é diagnosticada descartando outras causas de trombocitopenia, mesmo fazendo testes para as doenças infecciosas e enquanto aguardam o resultado da titulação, no caso de suspeita de erliquiose, alguns autores indicam entrar com doxiciclina por pelo menos 14 dias ou até obter o resultado<sup>14</sup>.

Descartando doenças secundárias, o tratamento da TIM classificada como primária, deve ser feito para que o sistema imunológico seja suprimido e assim diminua a resposta imunomediada que está destruindo suas próprias plaquetas e/ou hemácias, no caso de outras doenças autoimunes<sup>2</sup>. O medicamento mais comumente indicado é a prednisona, que é um glicocorticoide esteroide. Seguido pela azatioprina e ciclosporina<sup>15</sup>.

O suporte para o controle da hemorragia é muito importante no primeiro momento para evitar que o animal entre em choque. Animais que apresentem trombocitopenia grave com menos de 30.000 plaquetas/uL, com sangramento ativo,

que estejam apresentando episódios eméticos ou que desenvolverem complicações hemorrágicas como sangramento pulmonar ou em SNC, devem ser internados para observação e controle rigoroso <sup>7</sup>.

Pode ser utilizado a prednisona ou prednisolona em cães pequenos e gatos (sendo que em gatos é preferencialmente melhor a prednisolona) na dose de 1 a 2mg/kg VO a cada 12hs. Quando a contagem plaquetária estiver normal com mais de 200.000 plaquetas/uL, isso depois de 3 a 4 semanas, deve se ir diminuindo a dose em 25 a 50%. Enquanto a contagem permanecer estável, pode se diminuir a dosagem nessa mesma porcentagem de 25 a 50% a cada 3 a 4 semanas até que o animal estabilize o valor plaquetário com a menor dose efetiva. A dexametasona em dose 0,20 a 0,25 mg/kg IV ou SC a cada 12 horas, é uma boa opção para o animal que está intolerante à medicação via oral <sup>7</sup>.

Deve se considerar a terapia imunossupressora adjuvante em casos refratários à terapia com glicocorticóides, quando houver uma resposta de aumento plaquetário abaixo do esperado em 5 a 7 dias, ou quando a contagem cair durante a tentativa do desmame dos glicocorticoides <sup>5, 7, 11</sup>.

O uso concomitante dos glicocorticóides com outras drogas imunossupressoras como a ciclosporina em dose de 5 mg/kg VO a cada 12 horas tanto para cães como para gatos pode ser uma alternativa. Com a azatioprina administrada da mesma forma em dose de 2 mg/kg VO a cada 24 horas apenas em cães podemos diminuir a frequência de uso para cada 48 horas depois da suspensão do glicocorticóide ou quando houver diminuição da contagem leucocitária.

Assim como o protocolo com Micofenolato em dose de 10 a 20 mg/kg VO a cada 12 horas em cães também pode ser utilizado <sup>7</sup>. O micofenolato é uma droga imunossupressora que é metabolizada em ácido micofenólico. Inibe a inosina-5'-monofosfato desidrogenase (IMPDH), que é uma crítica enzima na síntese de novos nucleótidos de purina. Ele ainda suprime a proliferação de linfócitos T e B, a produção de autoanticorpos e glicolização de moléculas de adesão <sup>16</sup>.

Um estudo de 2014 feito nos Estados Unidos com utilização de micofenolato como terapia única, obteve sucesso de remissão total da trombocitopenia

imunomediada na maioria dos cães avaliados, os quais foram desmamados da medicação em alguns meses, onde apenas um animal teve recidiva, o qual continuou o tratamento com próprio micofenolato e houve melhora do quadro <sup>16</sup>.

Um outro estudo de animais efetivamente diagnosticados com trombocitopenia imunomediada primária, mostrou que associação de micofenolato com corticoesteróides leva à uma redução de custos, tempo de hospitalização e efeitos colaterais do que na administração associada de ciclosporina com corticoesteróides, mas não pode concluir que uma medicação é indiscutivelmente melhor que a outra, então ambas continuam a ser indicadas e utilizadas nas terapias de TIM <sup>17</sup>.

O efeito imunossupressor e antiploriferativo da leflunomida na medicina humana, vem sendo emprestado para a medicina veterinária em casos refratários de doenças imunomediadas, assim como acontece nos casos de outros fármacos imunossupressores não tão utilizados em medicina veterinária. Esses novos estudos indicam o uso de leflunomida para o tratamento de várias doenças imunomediadas, inclusive na terapia complementar para a TIM em cães, com resultados produtivos <sup>18</sup>.

Em situações emergenciais, Takahira (2014) indica o uso da vincristina em dose de 0,02 mg/kg estritamente IV, pois ela tem um efeito corrosivo em tecidos, em uma única dose, pode provocar o aumento acelerado na contagem plaquetária. Ela estimula a trombopoiese, inibe a fagocitose das plaquetas e a formação e ligação dos anticorpos antiplaquetários <sup>20</sup>.

Alguns autores sugerem que o uso da imunoglobulina humana intravenosa em dose de 0,5 a 1,5 g/kg IV em infusão contínua durante 6 a 12 horas como benéfica quando no início da terapia, tendo um efeito de rápida imunossupressão porém esta não é sustentada por muito tempo <sup>7, 21</sup>, uma vez que estudos mostraram que o uso prolongado dessas imunoglobulinas pode levar às reações anafiláticas sérias nos pacientes. Esse risco pode ser diminuído se for administrado difenidramina juntamente com a transfusão desses pacientes <sup>21</sup>. Dessa forma ela pode ser administrada sozinha ou em associação aos glicocorticoides.

Porém, estudos mostram que o uso de vincristina ou de imunoglobulina intravenosa humana como adjuvantes ao tratamento com glicocorticóides desde o

início do diagnóstico de TIM, tem resultados semelhantes na velocidade do aumento plaquetário e duração de hospitalização dos animais. Levando em conta que o tratamento com vincristina é mais barato do que o tratamento com imunoglobulina intravenosa humana, em muitos casos a primeira opção é a mais utilizada por esse motivo <sup>21, 22</sup>.

Recomenda-se a prevenção de gastrite medicamentosa com a utilização de omeprazol, pantoprazol, famotidina e sucralfato <sup>10</sup>. Hoje se utiliza mais o omeprazol, alguns estudos recentes mostram que a ranitidina não tem bons efeitos em cães e gatos.

Quando há casos de desidratação é indicado a reposição de fluido intravenoso ou em casos de hipoperfusão, para manter a hidratação e irrigação dos tecidos <sup>7</sup>.

A transfusão sanguínea deve ser indicada apenas como terapia de suporte e é uma manobra com eficácia a ser discutida, pois, se houver perigo de morte do animal por conta dessa hemorragia ativa, anemia e/ou trombocitopenia severa é indicado o uso de concentrado de plaquetas, plasma rico em plaquetas ou sangue total fresco em 20ml/kg quando o animal apresentar um hematócrito muito baixo. Porém, isso não é o responsável pelo aumento da sobrevivência dos animais acometidos <sup>23</sup>. Pode se utilizar também o concentrado de hemácias em 10 ml /kg a cada 4 horas em casos graves de anemias, nesse caso o objetivo é aumentar a oxigenação sanguínea mas não terá efeito sobre as plaquetas ou mesmo no processo hemostático. Deve-se tomar a decisão pela transfusão avaliando os sinais clínicos dos pacientes e não levando em consideração apenas o hematócrito <sup>7</sup>.

O hemocomponente indicado para pacientes com trombocitopenia sintomáticos é o concentrado de plaquetas na proporção de uma unidade para cada 10 kg. Uma alternativa, também, é o criopreservado de plaquetas, hoje com um acesso mais fácil por meio dos bancos de sangue no exterior, porém ainda indisponível no Brasil <sup>23</sup>.

Mesmo com todas essas drogas imunossupressoras conhecidas e bem utilizadas, há casos em que os animais não respondem ao tratamento, com isso, novas drogas foram e estão sendo pesquisadas para resolução do problema.

Em 2016 foi publicado um estudo com Romiplostim, um fármaco imunossupressor já utilizado em humanos para tratamento de púrpura hemorrágica mas que ainda não tinha sido utilizada em animais. Neste estudo foi comprovado a eficácia no tratamento de 5 cães, previamente tratados com glicocorticóides e/ou com associação de outros fármacos imunossupressores e tiveram a resposta refratária à essas terapias. Quatro de 5 cães obtiveram aumento da contagem plaquetária em 3-6 dias após o início do tratamento, sem recidivas por cerca de 3 a 10 meses depois. O único problema ainda é o custo do tratamento que é muito alto<sup>24</sup>.

### **3.6 Prognóstico**

Segundo Meeking (2013), a TIM em conjunto com outras complicações pode ser fatal, principalmente quando em fase aguda até a remissão parcial. Se o paciente sobreviver nesse período, o prognóstico é relativamente bom. Alguns casos o paciente precisará continuar o tratamento medicamentoso por toda vida e pode haver recidivas, necessitando assim de acompanhamento clínico principalmente por conta das reações farmacológicas esperadas dos corticosteróides administrados. Lembrar também que vacinas com vírus vivos e os fármacos sabidamente associados com a TIM secundária devem ser evitados.

Estudos comprovam que dependendo das manifestações clínicas de sangramentos como melena e aumento de uréia sérica levam à um prognóstico ruim, comparada a animais com TIM, mas que não apresentam esse tipo de alteração<sup>10</sup>.

### **3.7 Trombocitopenia Imunomediada Secundária**

É um distúrbio hemostático frequente em cães, associado sempre a uma doença de base como doenças autoimunes sistêmicas como lupus eritematoso sistêmico, anemia hemolítica imunomediada, artrite reumatóide, pênfigo, poliartrite juvenil do Akita, ou outros problemas como neoplasias, doenças infecciosas e vacinas com vírus vivo modificado<sup>5</sup>.

A TIM secundária acontece quando os anticorpos se ligam aos antígenos que foram adsorvidos pela superfície da membrana plaquetária por conta dessas doenças de base ou quando os imunocomplexos se ligam à essa superfície<sup>7</sup>.

Segundo Norris (2004), isso levará a destruição inadvertida de suas próprias plaquetas e/ou hemácias secundariamente à esse ataque imunológico direcionado pelas condições básicas descritas anteriormente. Se houver uma doença de base, deve-se tratar simultaneamente ela e o problema imunológico.

#### **4. DOENÇAS AUTOIMUNES SISTÊMICAS**

Existem uma série de outras doenças causadas por distúrbios do próprio sistema imunológico, a mais comum e associada a TIM é anemia hemolítica imunomediada que por uma reação de hipersensibilidade semelhante à TIM, resulta na produção de anticorpos mas dessa vez anti-hemácias que irá destruí-las ou acelerar o processo de remoção da circulação. A fisiopatologia e a etiologia são praticamente as mesmas e o prognóstico é variável, uma vez que a mortalidade nesses casos estão relacionados à anemia refratária à terapia que também é imunossupressora, ou em geral, casos de tromboembolismo pulmonar <sup>5, 25</sup>. Estudos mostram que na associação com azatioprina no tratamento de AHIM, há um aumento significativo na sobrevivência dos animais afetados <sup>25</sup>.

Segundo Takahira (2014), em combinação dessas duas afecções, normalmente é levada à condição chamada de Síndrome de Evans, que é a destruição imunomediada dos componentes hematológicos, no caso tanto das hemácias quanto das plaquetas e pode ser tanto primária quanto secundária, ou seja, uma junção da TIM com a AHIM. A denominação dessa síndrome é descrita mais em humanos, uma vez que em cães os estudos são poucos para concluir, mas sabe-se que os animais sofrem com essa desordem hemolítica similar <sup>25</sup>. Essa síndrome leva a formação de trombos em diversas partes do sistema vascular, porém é mais comum o acometimento de capilares pulmonares, levando ao tromboembolismo pulmonar <sup>19, 25</sup>. O tratamento para ambas é baseado na terapia imunossupressora, utilizando-se fármacos associados obtendo-se melhores resultados e prognósticos <sup>25</sup>.

Couto (1994) descreve o Lúpus Eritematoso Sistêmico como uma doença bem distribuída em cães e em gatos, uma doença autoimune que direciona anticorpos contra várias estruturas teciduais do organismo e mesmo tendo uma

etiologia desconhecida, sabe-se que é uma doença de caráter genético ou infeccioso. Como as manifestações clínicas são muito variáveis, podemos confundir com as doenças citadas anteriormente e muitas outras de caráter inflamatório. Pode levar a problemas renais sérios e o tratamento é com a mesma terapia imunossupressora <sup>5</sup>.

## **5. OUTRAS AFECÇÕES QUE CAUSAM TROMBOCITOPENIA**

Como citado anteriormente, nas trombocitopenias secundárias há alguns motivos associados à destruição imunomediada das plaquetas, dentre estes motivos podem ser algumas doenças infecciosas, doenças bacterianas, doenças virais, alguns protozoários, neoplasias ou mesmo uso de algumas drogas determinadas.

### **5.1 Bacterianas**

Bactérias como as Riquetsias são as mais comuns entre as doenças bacterianas causadoras de trombocitopenias. *Ehrlichia* spp. são ocasionalmente encontradas nas células do sangue periférico ou aspirados de linfonodos <sup>26</sup>. Ela é transmitida pela picada na presença de carrapatos *Rhipicephalus* infectados em áreas endêmicas. Pode levar a óbito pela intensa pancitopenia que causa e assim levar às hemorragias secundárias. As tetraciclina são eficazes no tratamento das mesmas <sup>27</sup>.

### **5.2 Virais**

Algumas doenças virais também são capazes de causar trombocitopenias, mas essa situação faz parte de todo um comportamento esperado. A infecção pelo vírus da cinomose é capaz de causar uma trombocitopenia, mas em relação ao quadro geral do animal infectado, esse não é o principal problema. Da mesma forma acontece em casos de acometimento pelo vírus da imunodeficiência felina, leucemia felina e peritonite infecciosa felina <sup>26</sup>.

### **5.3 Vacinas**

Nas reações pós-vacinais contra cinomose e parvovirose em cães é comum que a estimulação imune exacerbe as condições de trombocitopenia <sup>28</sup> e pode levar



a indução da doença pela vacina viva modificada, então em pacientes comprovadamente portadores de doenças imunomediadas é questionável a profilaxia da vacinação <sup>26</sup>.

Porém, estudos feitos nos EUA não identificaram uma concreta relação entre a vacinação recente com menos de 4 semanas e a trombocitopenia imunomediada efetivamente diagnosticada em cães. Mesmo assim, eles não descartaram essa possibilidade, uma vez que o número de casos positivos para TIM no estudo com vacinação recente foi baixo para afirmar ou mesmo descartar essa situação <sup>29</sup>.

#### **5.4 Protozoários**

A Leishmaniose e a Babesiose dentre suas manifestações clínico-patológicas também podem levar à um quadro de trombocitopenia e também nesses casos a trombocitopenia não é a manifestação de maior importância. O tratamento deve ser direcionado a estes e o suporte hemorrágico será utilizado na terapia coadjuvante <sup>26</sup>.

#### **5.5 Drogas**

Fármacos que possam causar hipoplasia ou aplasia de medula são os responsáveis pela trombocitopenia no uso de medicamentos, alguns deles são o estrógenos em cães <sup>28</sup>, tanto endógeno como o exógeno, e quimioterápicos como a ciclofosfamida, procarbazina, carmustina entre outros <sup>30</sup>.

#### **5.6 Neoplasias**

A redução dos megacariócitos também podem ser vista em neoplasias hematopoéticas por conta da infiltração de células neoplásicas na medula óssea, como em casos de mieloma múltiplo, leucemias, outros distúrbios mieloproliferativos e metástases de carcinoma na medula óssea <sup>19</sup>. As neoplasias também podem induzir a formação de anticorpos antiplaquetários ou ocasionar sequestro plaquetário pelo baço.

## 6. CONCLUSÃO

A trombocitopenia imunomediada é a desordem hemostática mais comum em cães. O diagnóstico da TIM primária é feito basicamente pela exclusão das causas da TIM secundária, com exames de titulação para doenças infecciosas, anamnese para saber sobre a vacinação, radiografias e ultrassonografias abdominais e aspirado de medula óssea.

O tratamento da TIM primária evoluiu muito nos últimos anos proporcionando uma remissão do quadro de forma mais efetiva e segura, minimizando os efeitos colaterais a longo prazo, já que o animal dependerá da terapia imunossupressora, para a manutenção da contagem plaquetária por toda a vida.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Rebar AH, MacWilliams PS, Feldman BF, Metzger FL, Pollock RVH, Roche J. Guia de Hematologia Para Cães e Gatos. São Paulo: Roca; 2003
- 2 - Norris C, Anemia Hemolítica Imunomediada e Trombocitopenia Imunomediada. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças dos Cão e do Gato. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. p. 2064.
- 3 – Hayakawa S, Spangler EA, Christopherson PW, Boudreaux MK. A novel form of macrothrombocytopenia in Akita dogs. Vet Clin Pathol. 2016; 45 (1): 103-105.
- 4 – Kelley J, Sharkey LC, Christopherson PW, Rendahl A. Platelet count and plateletcrit in Cavalier King Charles Spaniels and Greyhounds using the Advia 120 e 2120. Vet Clin Pathol. 2014; 43 (1): 43-49.
- 5 - Couto GC, Nelson RW, Bunch SE, Grauer GF, Hawkins EC, Johnson CA, et al. Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1994.
- 6 - Williams DA, Maggio-Price L. Canine idiopathic thrombocytopenia: clinical observations and long-term follow-up in 54 cases. J Am Med Vet Assoc. Set 1984; 185 (6): 660-6
- 7 - Meeking SA, Hackner SG. Trombocitopenia Imunomediada. In: Mazzaferro EM. Emergências e Cuidados Críticos: Em Pequenos Animais. São Paulo: Roca; 2013. p. 667-674.
- 8 - LeVine DN, Birkenheuer AJ, Brooks MB, Nordone SK, Bellinger DA, Jones SL, et al. A novel canine model of immune thrombocytopenia: Has ITP gone to the dogs?. Br J Haematol. Out 2014; 167 (1): 110-20.
- 9 - White C, Hohenhaus A. Immune-mediated Thrombocytopenia. In: Day MJ, Kohn B. BSAVA Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. 2. ed. Quedgeley: Bsava; 2012. p. 237-245.

- 10** - O'Marra SK, Dellaforcade AM, Shaw SP. Treatment and predictors of outcome in dogs with immune-mediated thrombocytopenia. *J Am Med Vet Assoc.* Fev 2011; 238 (3): 346-52.
- 11** - Tilley LP, Smith Jr FWK. *Consulta Veterinária em 5 Minutos: Espécies Canina e Felina.* 3.ed. Barueri: Manole; 2008.
- 12** - Lewis DC, Meyers KM. Canine Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *J Vet Intern Med.* Jul-Ago 1996: 10 (4): 207-218.
- 13** - Callan MB, Werner P, Mason NJ, Meny GM, Raducha MG, Henthorn PS. Polymorphisms in Canine Platelet Glycoproteins Identify Potential Platelet Antigens. *Comp Med.* Ago 2013: 63 (4): 348-54.
- 14** - Middleton SM. Immune-mediated Thrombocytopenia in a 4-month-old German Shepherd Dog. *Can Vet J.* Mai 2005: 46: 443-445.
- 15** - Scuderi MA, Snead E, Mehain S, Waldner C, Epp T. Outcome based on treatment protocol in patients with primary canine immune-mediated thrombocytopenia: 46 cases (2000–2013). *Can Vet J.* Mai 2016: 57 (5): 514-8.
- 16** - Yau VK, Bianco D. Treatment of five haemodynamically stable dogs with immune-mediated thrombocytopenia using mycophenolate mofetil as single agent. *J Small Anim Prac.* Jan 2014: 55 (6): 330-3.
- 17** - Cummings FO, Rizo SA. Treatment of presumptive primary immune-mediated thrombocytopenia with mycophenolate mofetil versus cyclosporine in dogs. *J Small Anim Prac.* Fev 2017: 58 (2): 96-102.
- 18** – Viviano KR. Update on Immununosuppressive Therapies for Dogs and Cats. *Vet Clin Small Anim.* 2013: 43: 1149-1170.
- 19** - Takahira RK. Seção C: Distúrbios da Hemostasia. In: Jericó MM, Neto JPA, Kogika MM. *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos.* São Paulo: Roca; 2014. p. 1870-1894.
- 20** - Hyung-Jin Park, Ja-Won Kim, Kun-Ho Song, Kyoung-Won Seo. Application of vincristine-loaded platelet therapy in three dogs with refractory immune-mediated thrombocytopenia. *J Vet Sci.* Mar 2015: 16 (1): 127-130.

- 21** - Spurlock NK, Prittie JE. A review of current indications, adverse effects, and administration recommendations for intravenous immunoglobulin. *J Vet Emerg Crit Care. Out* 2011; 21 (5): 471-83.
- 22** - Balog K, Huang AA, Sum SO, Moore GE, Thompson C, Scott-Moncrieff JC. A Prospective Randomized Clinical Trial of Vincristine versus Human Intravenous Immunoglobulin for Acute Adjunctive Management of Presumptive Primary Immune-Mediated Thrombocytopenia in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2013; 27: 536-541.
- 23** - Ng Zy, Stokes JE, Alvarez L, Bartges Jw. Cryopreserved platelet concentrate transfusions in 43 dogs: a retrospective study (2007–2013). *J Vet Emerg Crit Care. Set* 2016; 26 (5): 720-8.
- 24** - Kohn B, Bal G, Chirek A, Rehbein S, Salama A. Treatment of 5 dogs with immunemediated thrombocytopenia using Romiplostim. *BMC Vet Res.* 2016; 12: 96.
- 25** - Orcutt ES, Lee JA, Bianco D. Immune-mediated hemolytic anemia and severe thrombocytopenia in dogs: 12 cases (2001-2008). *J Vet Emerg Crit Care.* Jun 2010; 20 (3): 338-45
- 16** - Yau VK, Bianco D. Treatment of five haemodynamically stable dogs with immune- mediated thrombocytopenia using mycophenolate mofetil as single agent. *J Small Anim Prac.* Jan 2014; 55 (6): 330-3.
- 26** - Lappin MR. Doenças Infecciosas. In: Couto GC, Nelson RW. *Fundamentos de Medicina Interna de Pequenos Animais.* 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.
- 27** - Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. *Parasitologia Veterinária.* 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.
- 28** - Leonel RAB, Matsuno RMJ, Santos W, Veronezi AHM, Costa DR, Sacco SR. Trombocitopenia em Animais Domésticos. *Rev Cien Elet de Med Vet.* Jul 2008; VI (11): 5.
- 29** - Huang AA, Moore GE, Scott-Moncrieff JC. Idiopathic Immune-Mediated Thrombocytopenia and Recent Vaccination in Dogs. *J Vet Intern Med.* 2012; 26: 142-148.

**30** – Ferreira AL, Rocha CP, Vieira LM, Sant'Ana Dusse LM, Junqueira DRG, Carvalho MG, Alterações hematológicas induzidas por medicamentos convencionais e alternativos. Vet Bras Farm. 2013; 94 (2): 94-101.