

LA DIAGNOSI DELLE EMOPATIE IMMUNOMEDIATE NEL CANE*

ADAM L. HONECKMAN, DVM
DEBORAH W. KNAPP, DVM, MS
WILLIAM J. REAGAN, DVM, PhD
Purdue University

L'anemia emolitica immunomediata e la trombocitopenia immunomediata sono i disordini ematologici di natura immunitaria che si riscontrano con maggiore frequenza nel cane.¹ Nella prima condizione, la distruzione degli eritrociti viene accelerata dalla presenza di anticorpi e/o del complemento adesi alla membrana eritrocitaria.¹ Nella seconda, la maggiore distruzione oppure la ridotta produzione di piastrine sono mediate da anticorpi e/o dal complemento.¹ L'anemia o la trombocitopenia immunomediata possono decorrere singolarmente oppure essere associate a lupus eritematoso sistemico (LES).^{2,3} Nel presente lavoro vengono descritti gli aspetti fisiopatologici, clinici e diagnostici differenziali delle emopatie immunomEDIATE canine di cui vengono forniti uno schema di classificazione e un piano diagnostico.

FISIOPATOLOGIA

Il processo patologico immunomediato diretto contro gli eritrociti o le piastrine può essere primario (auto-immune) o secondario. I termini *autoimmune* e *immunomediato* non sono sinonimi. Nell'ambito di una risposta auto-immune, il sistema immunitario riconosce e attacca antigeni propri dell'organismo (*self*). Le risposte immunitarie secondarie sono dirette contro *antigeni estranei*, ma comportano un danneggiamento involontario dei tessuti e delle cellule normali dell'ospite. Da uno studio recente è emerso che la frequenza dei casi di anemia emolitica immunomediata primaria è simile a quella delle forme secondarie (42,9% e 57,1% rispettivamente).⁴ Le eziologie dell'anemia o della trombocitopenia immunomediata comprendono neoplasie, patologie infettive (parassitarie, virali, batteriche, da rickettsie o micotiche) e terapie farmacologiche.¹ In base alle segnalazioni, le neoplasie sembrano essere le cause più frequenti di anemia emolitica immunomediata secondaria.⁴

La distruzione eritrocitaria immunomediata implica il legame di anticorpi alla membrana cellulare, da cui derivano una o più fra le conseguenze elencate:

- Lisi mediata dal complemento (emolisi intravascolare), che si verifica con maggiore probabilità con le IgM che con le IgG.
- Completa fagocitosi e distruzione da parte di un macrofago (emolisi extravascolare).
- Fagocitosi parziale da parte di un macrofago; la rimozione della membrana cellulare e del citoplasma è soltanto parziale e ne deriva la formazione di uno sferocita.⁵

L'anemia emolitica immunomediata, oltre a essere classificata in primaria o secondaria, può essere distinta in base a dipendenza termica degli anticorpi, presenza o assenza di agglutinazione e presenza o assenza di emolisi. Nel riquadro viene riassunto questo schema di classificazione.^{1,5}

I meccanismi della distruzione piastrinica di origine immunomediata sono simili. L'anticorpo legato alle piastrine può provocare una lisi mediata dal complemento o la fagocitosi da parte dei macrofagi a livello splenico o epatico.^{1,3,5} Gli anticorpi che si legano ai megacariociti possono essere all'origine di trombocitopenia interferendo con la produzione di piastrine.^{1,3,6,7}

ANEMIA

Segnalamento

Secondo quanto segnalato in letteratura, la frequenza dell'anemia emolitica immunomediata sarebbe più elevata nelle cagne di età media, con maggiore incidenza in alcune razze, fra cui cocker spaniel, barbone e bobtail.^{5,8} Tuttavia, altri ricercatori non hanno notato alcuna predisposizione di sesso o di razza.^{2,5}

Segni clinici e diagnosi differenziali

I cani con anemia emolitica immunomediata spesso vengono portati alla visita poiché presentano letargia, debo-

* Da "The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian" Vol. 18, N.2, febbraio 1996, p.113. Con l'autorizzazione dell'Editore.

Classificazione degli anticorpi in base alla dipendenza termica

- I. Anticorpi caldi (reattività ottimale a 37°C)
 - A. Anticorpi incompleti
 - Non sono dotati di attività agglutinante propria verso gli eritrociti sospesi in soluzione fisiologica
 - È la forma anticorpale più comune in corso di anemia emolitica immunomediata
 - Provocano un'afezione clinicamente manifesta con esordio insidioso e decorso cronico
 - B. Agglutinine calde
 - Inducono agglutinazione in vitro
 - Provocano afezioni clinicamente manifeste ad insorgenza grave e improvvisa e prognosi riservata
 - C. Emolisi in vivo
 - Gli anticorpi inducono una fissazione del complemento massiccia
 - Provocano emolisi ed emoglobinuria in vivo
- II. Anticorpi freddi (reattività ottimale a temperature < 37°)
 - A. Agglutinine fredde
 - Solitamente mediate da IgM
 - Inducono la necrosi ischemica delle estremità
 - B. Anticorpi emolitici non agglutinanti
 - Sono rari in medicina veterinaria
 - Provocano emoglobinuria parossistica da agglutinine fredde

lezza, depressione o anoressia. Solitamente, la comparsa dei segni clinici è insidiosa poiché gli anticorpi coinvolti sono per la maggior parte incompleti. Gli anticorpi incompleti provocano più spesso forme di anemia a sviluppo lento piuttosto che autoagglutinazione rapida. È possibile che si verifichi la comparsa improvvisa di segni clinici gravi, soprattutto se gli anticorpi sono rappresentati da agglutinine di tipo caldo. L'esame clinico rivela pallore delle mucose, tachicardia, soffio cardiaco (secondario a diminuita viscosità del sangue dovuta all'anemia), splenomegalia, epatomegalia, ittero e febbre.^{1,2,5,8} In presenza di anemia nel cane, occorre prendere in considerazione le principali diagnosi differenziali (vedi il riquadro) in ogni singolo individuo.⁹⁻¹¹

Indagine diagnostica

Test non immunologici

Nei cani con sospetta anemia emolitica immunomediata, la valutazione diagnostica deve comprendere esame emocromocitometrico completo, conteggio dei reticolociti, valutazione dello striscio, profilo biochimico e analisi delle urine. È possibile emettere un sospetto diagnostico di anemia emolitica immunomediata quando lo striscio evidenzia aspetti morfologici compatibili e siano state escluse altre cause di anemia. I test immunologici contri-

buiscono a confermare la diagnosi. È importante distinguere l'anemia emolitica immunomediata in forma primaria da quella secondaria (Fig. 1).

Poiché l'anemia emolitica e la trombocitopenia immunomediata possono coesistere, è opportuno eseguire anche il conteggio piastrinico. In presenza di trombocitopenia, occorre orientare la valutazione diagnostica alla ricerca di un'eventuale forma immunomediata.

Nei casi di anemia emolitica immunomediata, l'esame emocromocitometrico completo conferma lo stato anemico e spesso rivela l'esistenza di leucocitosi (caratterizzata da neutrofilia associata o meno a spostamento a sinistra della formula di Arneth) conseguente ad attivazione del complemento e attività chemiotattica dei neutrofili.⁵ Occorre misurare con attenzione le proteine totali. Nelle forme di anemia secondaria a diminuita produzione o eccessiva distruzione di eritrociti, queste sono solitamente normali. Quando l'anemia è secondaria a una perdita di sangue, il valore ematocrito e i livelli di proteine totali possono diminuire in seguito alla perdita di eritrociti e di proteine plasmatiche, con spostamento compensatorio di liquido dallo spazio interstiziale allo scomparto intravascolare.¹⁰

Allo scopo di stabilire la natura rigenerativa o non rigenerativa dell'anemia, è consigliabile utilizzare il conteggio assoluto dei reticolociti oppure la loro percentuale corretta. Il riscontro di un numero assoluto di reticolociti superiore a 60.000 elementi per microlitro oppure di una percentuale corretta degli stessi elementi (percentuale di reticolociti \times ematocrito rilevato \div ematocrito normale) superiore a uno rappresenta una risposta rigenerativa.^{9,10}

I casi tipici di anemia emolitica immunomediata sono di natura rigenerativa poiché gli eritrociti maturi vengono emolizzati, mentre i loro precursori non sono colpiti.^{5,8,12} Benché l'anemia emolitica immunomediata solitamente sia di tipo rigenerativo, è possibile che sia non rigenerativa se gli anticorpi e/o il complemento sono diretti contro i precursori eritrocitari presenti nel midollo osseo oppure se l'insorgenza della condizione è acuta.^{1,5,8,12} Pertanto, la mancanza di reticolocitosi *non* esclude la presenza di anemia emolitica immunomediata.

È consigliabile esaminare al microscopio uno striscio di sangue per controllare la morfologia eritrocitaria e valutare il numero di piastrine. I reperti di sferocitosi o agglutinazione sono fortemente indicativi di anemia emolitica immunomediata. L'agglutinazione appare come un aggregato di eritrociti in forma di grappolo nello striscio e deve essere distinta dall'impilamento (o formazione di *rouleaux*; eritrociti raggruppati a forma di pila di monete) che si verifica nelle forme infiammatorie.

In alcuni casi, questa distinzione è resa possibile dall'esame di un preparato del campione di sangue. Occorre mescolare una piccola goccia di sangue con una grossa goccia di soluzione fisiologica isotonica, deporre quanto ottenuto su un vetrino portaoggetto pulito, sovrapporvi il vetrino coprioggetto e osservare al microscopio. Il fenomeno dell'impilamento, a differenza dell'agglutinazione, scompare in presenza della soluzione fisiologica.^{1,9} Tuttavia, questo test non è infallibile; infatti è possibile ottenere false negatività in presenza di agglutinine deboli. Altri aspetti morfologici rilevabili nello striscio sono rappresentati da policromasia, anisocitosi e metarubrocitosi.^{1,5,8,9}

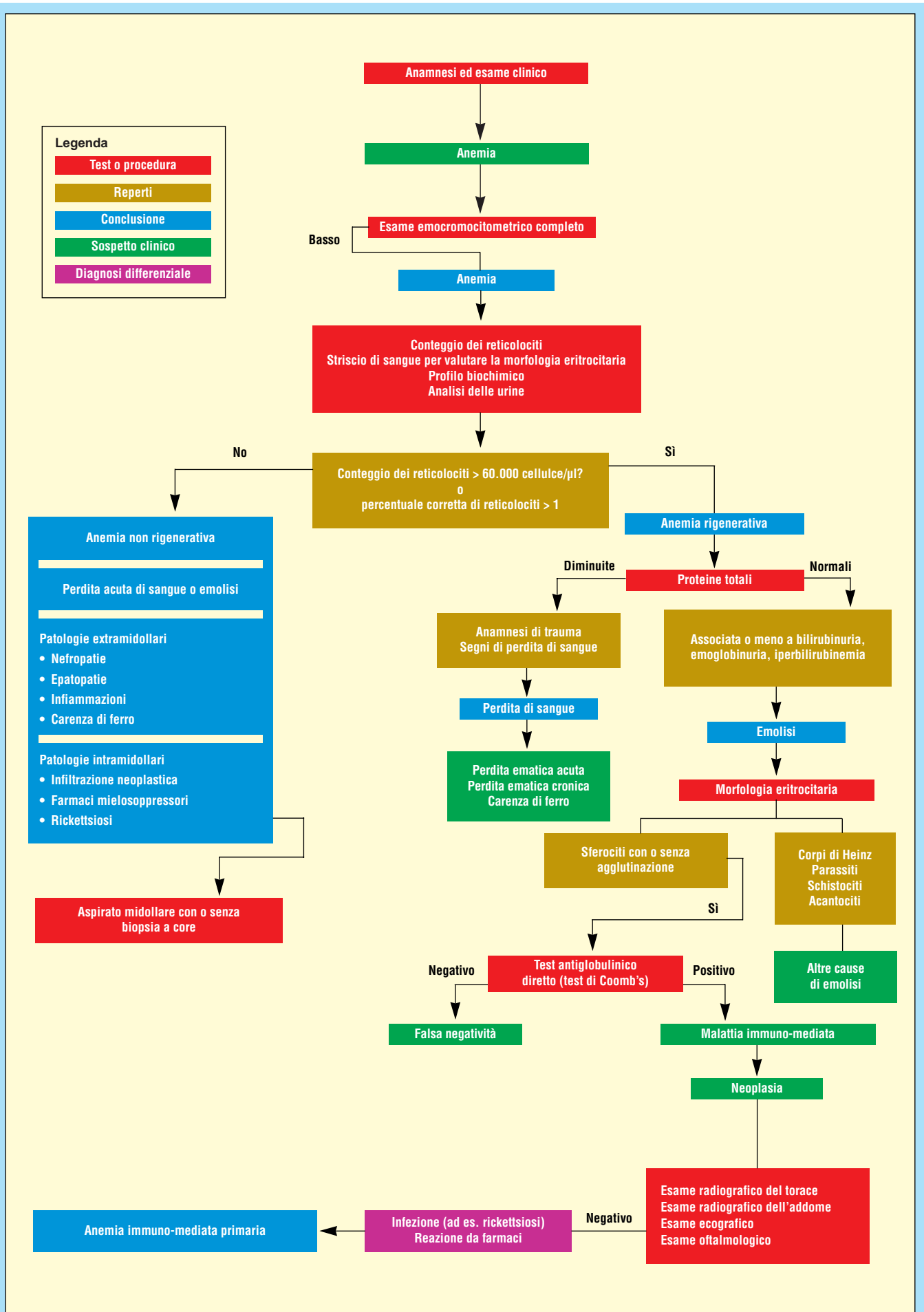


FIGURA 1 - Approccio diagnostico all'anemia nel cane.

Diagnosi differenziale dell'anemia nel cane

Diminuita produzione di eritrociti (anemia non rigenerativa)

- Rickettsiosi
- Linfoma o altre neoplasie
- Chemioterapia, estrogeni o altri farmaci
- Malattie immunomediate
- Nefropatie croniche
- Patologie infiammatorie croniche

Perdita di sangue (anemia rigenerativa)

- Traumi
- Coagulopatia intravascolare disseminata
- Ulcere gastrointestinali
- Rodenticidi anticoagulanti
- Neoplasie
- Parassiti (pulci, anchilostomi)

Emolisi (anemia rigenerativa)

- Malattia immunomediata
- Coagulopatia intravascolare disseminata
- Microangiopatia (ad es. emangiosarcoma)
- Anemia con formazione di corpi di Heinz
- Deficit di piruvatochinasi
- Babesiosi

Il prelievo di campioni di midollo osseo mediante aspirazione o biopsia è indicato in caso di anemia non rigenerativa (o trombocitopenia) allo scopo di individuarne l'eziologia. Se la condizione è di natura immunomediata, spesso è presente un quadro di iperplasia eritroide.

Quando l'ipotesi di anemia emolitica immunomediata è plausibile, occorre eseguire un profilo biochimico e un'analisi delle urine. I cani colpiti dalla condizione, in genere presentano iperbilirubinemia o bilirubinuria.¹² Il profilo biochimico e l'analisi delle urine sono utili anche per escludere altre patologie sistemiche.

Test immunologici

Il test dell'antiglobulina diretto (noto anche come test di Coombs diretto) è un ulteriore esame, di estrema utilità, a sostegno della diagnosi di anemia emolitica immunomediata. Questo metodo consente di rilevare gli anticorpi oppure il complemento sulla superficie eritrocitaria. Il reagente di Coombs, che contiene anticorpi specie-specifici diretti contro le varie classi anticorpali e del complemento, viene mescolato con eritrociti prelevati dal soggetto e sottoposti a lavaggio. L'agglutinazione si verifica se esiste un rapporto appropriato fra anticorpi o complemento sull'eritrocita e antiglobuline nel reagente.^{5,9}

Il test dell'antiglobulina diretto (di Coombs) risulta positivo nel 60-70% dei casi di anemia emolitica immunomediata.^{2,8,9} Tuttavia, come verrà elencato, numerosi fattori possono essere all'origine di false-negatività, per cui un risultato negativo del test di Coombs *non* esclude la presenza di anemia emolitica immunomediata.^{5,8,9,13}

- Presenza di anticorpi o complemento in quantità insufficiente sulla superficie eritrocitaria
- Rapporto antiglobuline/anticorpi improprio
- Esecuzione del test in condizioni di temperatura non adeguate
- Terapia con corticosteroidi (solitamente di durata superiore a una settimana)
- Reagente specie-specifico non appropriato
- Anemia emolitica immunomediata indotta dai farmaci (se il farmaco non era compreso nel test).

Il test dell'antiglobulina diretto (di Coombs) è abbastanza specifico, ma si possono avere esiti falsi positivi a causa dei seguenti fattori:^{8,9,13}

- Malattie infettive, infiammatorie, neoplastiche e immunomediate, da cui deriva un aumento di anticorpi nel plasma che rivestono gli eritrociti ma non provocano un'anemia emolitica immunomediata
- Precedenti trasfusioni di sangue (soprattutto se eseguite da 3 a 21 giorni prima)
- Conservazione dei campioni di sangue coagulato a 4°C (che provoca il legame in vitro fra complemento ed eritrociti)
- Titoli (fino a 1:8) nei confronti delle agglutinine fredde che non provocano patologie clinicamente manifeste.

Il test dell'antiglobulina diretto rileva *soltanto* la presenza di anticorpi o complemento sulla superficie dell'eritrocita. Il test non permette di stabilire contro quale antigene sia diretto l'anticorpo e quindi non consente di distinguere le forme primarie dell'anemia emolitica da quelle secondarie.

Il test diagnostico dell'antiglobulina diretto che utilizza un reagente polispecifico in grado di rilevare la presenza di IgG, IgM e C3 sulla superficie dell'eritrocita è quello maggiormente utilizzato e di più facile reperibilità.

I test elencati di seguito sono quelli dotati di maggiore sensibilità:

- Un test di Coombs che utilizza test distinti e specifici per IgG, IgM e C3.^{2,13}
- Un test dell'antiglobulina immunoenzimatico che misura i livelli di IgG, IgM e C3 sulla superficie dell'eritrocita.^{4,14}
- Un test alla papaina che modifica le membrane eritrocitarie rendendole maggiormente sensibili all'agglutinazione e che quindi favorisce l'individuazione degli anticorpi incompleti.¹⁵
- Test radioimmunometrico che misura i livelli di IgG legati agli eritrociti.¹⁶

In uno studio recente condotto utilizzando un test antiglobulinico diretto immunoenzimatico, è stata dimostrata una correlazione fra la gravità dell'anemia e la quantità di IgG legate agli eritrociti.⁴ In un altro studio è stato determinato che la quantità di immunoglobulina legata agli eritrociti diminuiva con il miglioramento dell'anemia nel corso del trattamento.¹⁴ È probabile che alcuni di questi test diventeranno di uso più comune.

TROMBOCITOPENIA

Segnalamento

La trombocitopenia immunomediata sembra essere più diffusa nelle cagne di età media, soprattutto nelle razze pastore tedesco, barbone standard, bobtail, e cocker spaniel.^{3,17-19}

Segni clinici e diagnosi differenziali

I cani con trombocitopenia immunomediata vengono portati alla visita con manifestazioni quali letargia, debolezza, epistassi, melena, ematemesi, ematochezia, ematuria, petecchie e/o ecchimosi. È di fondamentale importanza considerare le diagnosi differenziali (vedi il riquadro) dei disordini emorragici che colpiscono il cane.^{3,7,17,20-22}

Indagini diagnostiche

Test non-immunologici

Negli animali con possibile trombocitopenia immunomediata o altri disordini emorragici, l'indagine diagnostica deve essere costituita da esame emocromocitometrico completo, valutazione dello striscio, conteggio delle piastrine, misurazione delle loro dimensioni (se possibile), tempo di protrombina e tempo di tromboplastina parziale attivata, prodotti di degradazione della fibrina ed esame di aspirati di midollo osseo.

La diagnosi presunta di trombocitopenia immunomediata è basata sul riscontro di modificazioni congrue dei parametri ematologici oltre che sull'esclusione di altre cause di trombocitopenia, fra cui sequestro e consumo di un maggiore numero di piastrine. La conferma si ottiene mediante test immunologici. Quando la diagnosi di trombocitopenia è stata formulata, occorre classificare la patologia in primaria o secondaria (Fig. 2).

L'esame emocromocitometrico completo può servire a rilevare la coesistenza di anemia emolitica immunomediata o di grave anemia secondaria a perdita di sangue. Lo striscio di sangue può essere utilizzato per valutare il numero di piastrine circolanti. Il riscontro di sei o sette di questi elementi per campo microscopico ad immersione in olio (1000X) nel monostrato dello striscio corrisponde a circa 100.000 elementi per microlitro. In generale, si ritiene che, prima che compaiano problemi di coagulazione, il conteggio delle piastrine debba risultare inferiore a 50.000 elementi per microlitro (presumendo che la funzionalità piastrinica e i fattori della coagulazione siano normali). Pertanto, il riscontro di un numero di piastrine inferiore a 3 o 4 per campo microscopico ad immersione in olio (1000X) è indice di trombocitopenia clinicamente significativa (vale a dire, trombocitopenia di gravità tale da provocare un disordine emorragico).²³

La gravità della trombocitopenia e la dimensione delle piastrine suggeriscono a loro volta una possibile eziologia. Nell'ambito di uno studio retrospettivo, in 21 su 22 cani con conteggio piastrinico inferiore a 20.000 elementi per microlitro venne formulata una diagnosi di trombocitope-

Diagnosi differenziale dei disordini emorragici nel cane

Disordini vascolari

- Sono ritenuti rari in ambito veterinario

Disfunzioni piastriniche di ordine qualitativo

- Nefropatie
- Salicilati e altri farmaci antiinfiammatori non steroidei
- Malattia di Von Willebrand

Disordini piastrinici di ordine quantitativo (trombocitopenia)

Diminuita produzione piastrinica

- Rickettsiosi
- Linfoma e altre neoplasie
- Origine immunomediata
- Intossicazione da estrogeni
- Chemioterapia

Aumentata distruzione o utilizzazione di piastrine

- Origine immunomediata
- Coagulopatia intravascolare disseminata
- Rickettsiosi

Deficit di fattori della coagulazione

- Intossicazione da rodenticidi anticoagulanti
- Coagulopatia intravascolare disseminata
- Deficit di fattori coagulativi di natura ereditaria

nia immunomediata. Recentemente, è stato dimostrato il possibile sviluppo di microtrombocitosi (volume piastrinico medio inferiore a 5,4 femtolitri) nei cani affetti da trombocitopenia immunomediata.²⁴

In 17 su 18 cani con volume piastrinico medio inferiore a 5,4 femtolitri è stata formulata la diagnosi di trombocitopenia immunomediata. Tuttavia, quando tutti i cani affetti dalla condizione vennero esaminati, soltanto nel 55% di questi venne rilevata la presenza di microtrombocitosi. Probabilmente, questo reperto rispecchia la variabilità del momento in cui il soggetto è stato portato alla visita (nelle fasi precoci del processo, il danno a carico delle piastrine può indurre la formazione di elementi piastrinici di piccole dimensioni). Dopo un certo periodo, il midollo osseo risponde alla ridotta massa piastrinica producendo elementi di dimensioni maggiori.

È opportuno misurare il tempo di protrombina e il tempo di tromboplastina parziale attivata per potere escludere la presenza di patologie quali coagulopatia intravascolare disseminata, intossicazione da rodenticidi anticoagulanti e deficit di altri fattori della coagulazione. L'esecuzione di valutazioni seriali del profilo coagulativo è estremamente utile per individuare questi disordini.

In presenza di trombocitopenia, occorre prelevare campioni di midollo osseo mediante aspirazione. L'esame citologico dei campioni midollari consente di evidenziare pro-

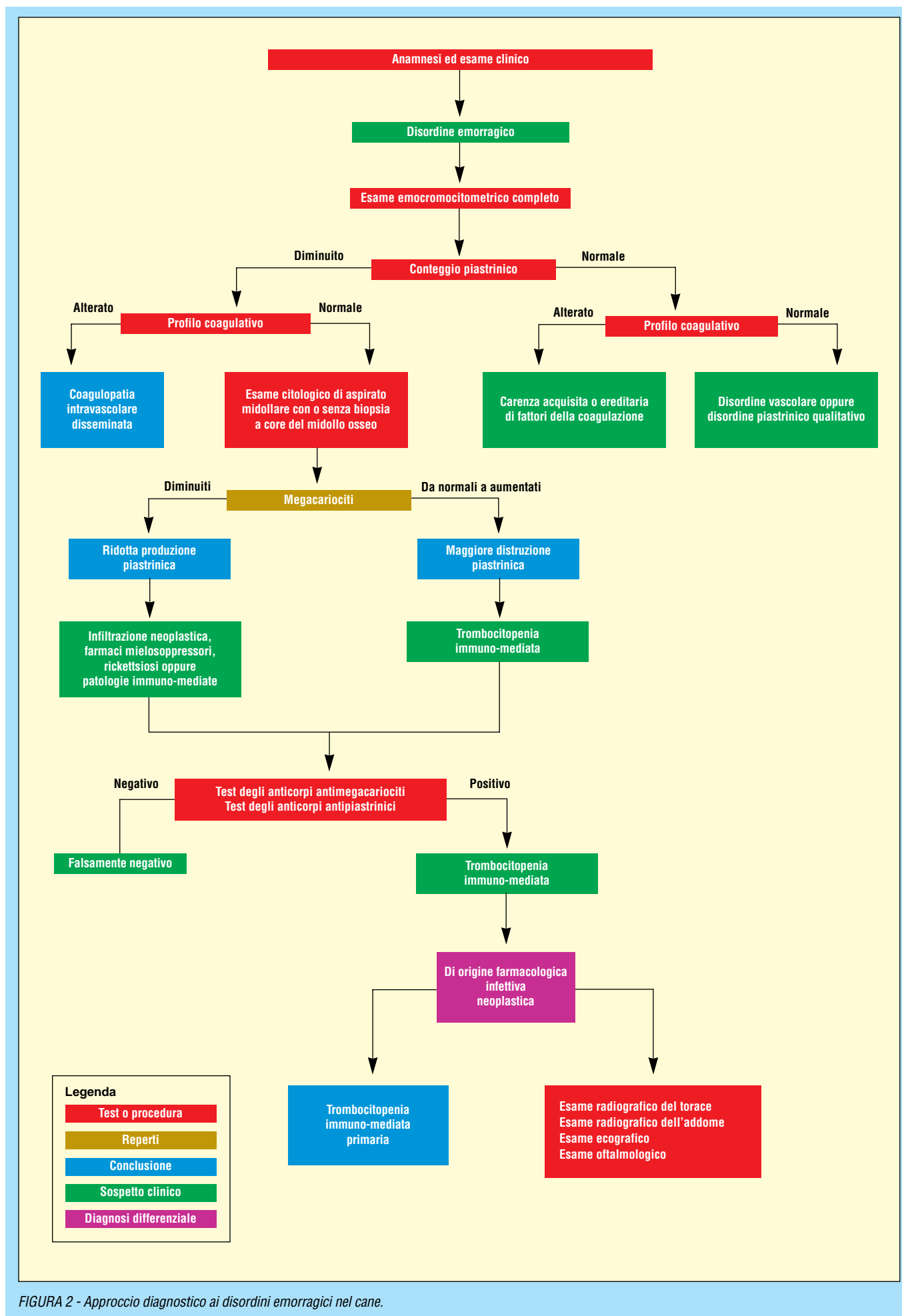


FIGURA 2 - Approccio diagnostico ai disordini emorragici nel cane.

cessi di mielottisi e di valutare il numero di megacariociti. Inoltre, in caso di sospetta trombocitopenia immunomediata, l'aspirato midollare deve essere sottoposto anche al test degli anticorpi antimegacariociti.

Poiché la quantità di cellule presenti nell'aspirato di midollo osseo è variabile, è difficile determinare il numero di megacariociti. Inoltre, nei casi di trombocitopenia immunomediata, quest'ultimo può essere diminuito, normale o aumentato.^{3,5,6,25}

Test immunologici

Il test del fattore piastrinico 3 e quello degli anticorpi anti-megacariociti (rilevati mediante immunofluorescenza diretta) sono due esami ausiliari che facilitano la diagnosi di trombocitopenia immunomediata. Il primo serve a rilevare gli anticorpi antiplastrine nel siero dell'animale. Il siero del soggetto viene miscelato a piastrine normali sottoposte a lavaggio, fattori della coagulazione XI e XII e cloruro di calcio. Contemporaneamente, si esegue il test su un campione di controllo. Se il siero del soggetto contiene un numero adeguato di anticorpi antiplastrinici, questi si legano alle piastrine normali e inducono il rilascio di fosfolipidi di membrana (fattore piastrinico 3). Questo processo abbrevia i tempi della coagulazione (come risulta dal tempo di tromboplastina parziale) rispetto al controllo normale. Il test del fattore piastrinico 3 può anche essere impiegato in presenza di un farmaco quando si sospetti l'esistenza di trombocitopenia immunomediata farmacodotta.^{3,5}

Il fattore piastrinico 3 è considerato specifico, benché sia dotato di sensibilità relativamente scarsa (dal 15% al 70%) per la trombocitopenia immunomediata.^{1,6} Pertanto, la negatività del test *non* esclude l'esistenza dell'affezione; inoltre, data la sensibilità piuttosto bassa lo si utilizza raramente. I risultati falsamente negativi possono dipendere da quantità inadeguate di anticorpi nel siero, stati di trombocitopenia immunomediata indotti da farmaci (se il farmaco non era compreso nel test) e terapie con corticosteroidi.^{1,3,7} È stato segnalato che la terapia steroidea è in grado di negativizzare la positività di un test del fattore piastrinico 3 nell'arco di appena 5 giorni.³ Tuttavia, sono stati segnalati risultati positivi anche dopo 21 giorni di trattamento con prednisone e ciclofosfamide.³

Secondo quanto segnalato in letteratura, l'immunofluorescenza diretta (IFD) è stata impiegata per rilevare gli anticorpi anti-megacariociti. Il campione di midollo osseo prelevato per aspirazione viene strisciato su un vetrino, fissato con alcool etilico al 95% per 10 minuti, lavato con acqua distillata per 5 minuti e poi lasciato asciugare all'aria. Gli strisci fissati possono essere conservati fino a 1 mese alla temperatura di 4°C. Il vetrino viene quindi esposto alle immunoglobuline anti-cane di coniglio marcate con fluoresceina. La fluorescenza dei megacariociti è indice di reazione positiva.²⁶

L'immunofluorescenza diretta è dotata di sensibilità superiore al test del fattore piastrinico 3.^{3,6} È possibile ottenere risultati falsamente negativi in seguito a terapie con corticosteroidi o quando il numero di megacariociti disponibili per la valutazione sia insufficiente.^{1,3} Pertanto, la negatività del test *non* esclude l'esistenza di trombocitopenia immunomediata. Secondo le segnalazioni, i risultati del-

l'immunofluorescenza diretta si negativizzano dopo soli 9 giorni²⁵ (benché possano rimanere positivi anche dopo 1 o 2 settimane) di terapia con corticosteroidi.³ L'immunofluorescenza diretta viene considerata specifica per la trombocitopenia immunomediata e non è stata segnalata alcuna causa di risultati falsamente positivi.

Inoltre, sono stati messi a punto un test immunoenzimatico (ELISA),²⁷ un dosaggio radio-immunologico²⁸ e un test di immunofluorescenza^{29,30,31} per rilevare gli anticorpi antiplastrinici. Il test ELISA sembra dotato di sensibilità maggiore rispetto al test del fattore piastrinico 3 (88% contro 53%) nell'identificazione della trombocitopenia immunomediata. In una segnalazione recente, è stato descritto un test di immunofluorescenza piastrinica indiretta, che risulta più sensibile del test di immunofluorescenza megacariocitica nel rilevare la trombocitopenia immunomediata (70% contro il 41%).³¹ È probabile che in futuro questi test verranno utilizzati più diffusamente.

CONCLUSIONI

I test di laboratorio (come quello antiglobulinico diretto [di Coombs], la determinazione del fattore piastrinico 3 e l'immunofluorescenza diretta) possono facilitare la diagnosi delle emopatie immunomediate nel cane. I risultati di questi esami devono essere presi in considerazione insieme a quelli dell'intera indagine diagnostica. Questi test *non* permettono di distinguere le patologie immunomediate primarie (autoimmuni) da quelle secondarie. Pertanto, un risultato positivo non corrisponde a una diagnosi certa e occorre impegnarsi per escludere l'origine immunomediata di un'emopatia prima di intraprendere la terapia.

Note sugli Autori

Quando il presente lavoro è stato inviato per la pubblicazione, il Dr. Honeckman era affiliato al Department of Veterinary Clinical Sciences of the School of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, Indiana. Attualmente, il Dr. Honeckman è affiliato al Norwood Park Animal Hospital, Norridge, Illinois. Il Dr. Knapp è affiliato al Department of Veterinary Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Purdue University ed è Diplomate of the American College of Veterinary Internal Medicine (Oncology). Il Dr. Reagan è affiliato al Department of Veterinary Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Purdue University ed è Diplomate of the American College of Veterinary Pathologists.

Bibliografia

1. Thompson JP: Immunologic diseases, in Ettinger SJ (ed): Textbook of Veterinary Internal Medicine, ed 3. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 2297-2328.
2. Switzer WJ, Jain NC: Autoimmune hemolytic anemia in dogs and cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract 11:405-420, 1981.
3. Jain NC, Switzer JW: Autoimmune thrombocytopenia in dogs and cats. Vet Clin North Am Small Anim Pract 11:421-434, 1981.
4. Jones DR, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR, Bourne FJ: Use of a direct enzyme-linked antiglobulin test for laboratory diagnosis of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. Am J Vet Res 53:457-465, 1992.

5. Halliwell RE, Gorman NT: Autoimmune blood diseases, in Pedersen D (ed): *Veterinary Clinical Immunology*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 308-336.
6. Helfand SC, Couto CG, Madewell BR: Immune-mediated thrombocytopenia associated with solid tumors in dogs. *JAAHA* 21:787-794, 1985.
7. Thomason KJ, Feldman BF: Immune-mediated thrombocytopenia: Diagnosis and treatment. *Compend Contin Educ Pract Vet* 7(7):569-576, 1985.
8. Cotter SM: Autoimmune hemolytic anemia in dogs. *Compend Contin Educ Pract Vet* 14(1):53-59, 1992.
9. Tvedten H: Erythrocyte disorders, in Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH (eds): *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 36-56.
10. Duncan JR, Prasse KW: Erythrocytes, in *Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology*. Ames, Iowa State University Press, 1986, pp 3-30.
11. Cotter SM: Anemia, in Ettinger SJ (ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine* ed 3. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 91-94.
12. Klag AR, Giger U, Shofer FS: Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *JAVMA* 202:783-788, 1993.
13. Jones DRE, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR, Bourne FJ: Investigation into factors influencing performance of the canine antiglobulin test. *Res Vet Sci* 48:53-58, 1990.
14. Barker RN, Gruffydd-Jones TJ, Stokes CR, Elson CJ: Autoimmune hemolysis in the dog: Relationship between anemia and the levels of red blood cell count, immunoglobulins, and complement measured by the enzyme-linked antiglobulin test. *Vet Immunol Immunopathol* 34:1-20, 1992.
15. Jones DR, Darke PG: Use of papain for the detection of incomplete erythrocyte autoantibodies in autoimmune hemolytic anemia of the dog and cat. *J Small Anim Pract* 16: 273-279, 1975.
16. Kaplan AV, Quimby FW: A radiolabeled staphylococcal protein assay for detection of anti-erythrocyte IgG in warm agglutinin autoimmune hemolytic anemia in dogs and man. *Vet Immunol Immunopathol* 4:307-317, 1983.
17. Feldman BF: Disorders of platelets, in Eirk RW (ed): *Current Veterinary Therapy X* Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 457-464.
18. Grindem CG, Breitschwerdt EB, Corbett WT, et al: Epidemiologic survey of thrombocytopenia in dogs: A report on 987 cases. *Vet Clin Pathol* 20(2):38-43, 1991.
19. Williams DA, Maggio-Price L: Canine idiopathic thrombocytopenia: Clinical observations and long-term follow up in 54 cases. *JAVMA* 185(6):660-663, 1984.
20. Green RA: Hemostatic disorders: Coagulopathies and thrombotic disorders, in Ettinger SJ (ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, ed 3. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 2246-2264.
21. Feldman BF: Platelet dysfunction, in Ettinger SJ (ed): *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, ed 3. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 2265-2279.
22. Tvedten H: Hemostatic abnormalities, in Willard MD, Tvedten H, Turnwald GH (eds): *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1989, pp 86-102.
23. Duncan JR, Prasse KW: Hemostasis, in Duncan JR, Prasse KW (eds): *Veterinary Laboratory Medicine Clinical Pathology*. Ames, Iowa State University Press, 1986, pp 73-86.
24. Northern JR, Tvedten HW: Diagnosis of microthrombocytosis and immune-mediated thrombocytopenia in dogs with thrombocytopenia: 68 cases (1987-1989). *JAVMA* 200: 368-372, 1992.
25. Joshi BC, Jain NC: Detection of antiplatelet antibody in serum and on megakaryocytes of dogs with autoimmune thrombocytopenia. *Am J Vet Res* 37:681-685, 1976.
26. Jain NC: Immunohematology, in Schalm's *Veterinary Hematology*, ed 4. Philadelphia, Lea Febiger, 1986, pp 990-1039.
27. Campbell KL, George JW, Greene CE: Application of the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of platelet antibodies in dogs. *Am J Vet Res* 45:2561-2564, 1984.
28. Bloom JC, Blackmer SA, Bugelski PJ, et al: Gold-induced thrombocytopenia in the dog. *Vet Pathol* 22:492-499, 1985.
29. Kristensen AT, Klausner JS, Weiss DJ, et al: Prevalence of antiplatelet antibody in dogs with lymphosarcoma. *Proc Vet Cancer Soc*: 49, 1991.
30. Thiem PA, Abbot DL, Moroff S, et al: Preliminary findings on the comparison of flow cytometric and solid-phase radioimmunoassay techniques for detection of serum antiplatelet antibodies in dogs. *Proc 25th Annu Meet Am Soc Vet Clin Pathol*:6, 1990.
31. Kristensen PT, Wass DJ, Klausner JS, et al: Detection of antiplatelet antibody with a platelet immunofluorescence assay. *J Vet Intern Med* 8:339, 1994.