

Terapie trasfusionali nel cane parte II. Indicazioni cliniche, valutazioni pre-trasfusionali, modalità di somministrazione e reazioni avverse



La trasfusione di sangue intero o dei suoi componenti può rivelarsi indicata nella gestione di anemie, coagulopatie ereditarie ed acquisite, e meno frequentemente ipoprotidemie e trombocitopenie/patie. Sebbene il trattamento trasfusionale sia generalmente una terapia sicura e spesso salvavita, è associato a eventi avversi talvolta sottostimati. Specifiche indicazioni per il trattamento trasfusionale non sono state ancora definite con evidenza scientifica, né in medicina umana, né in medicina veterinaria. Al ricevente dovrebbe essere somministrato solo il componente ematico necessario, secondo le modalità, i dosaggi e la velocità di infusione più adeguati. È importante ricordare inoltre che non esistono singoli parametri sufficienti ad oggettivare la necessità di una trasfusione, ma che questa decisione si deve basare su una valutazione clinica complessiva del paziente.



Chiara Agnoli *
Med Vet, PhD



Francesco Dondi
Med Vet, PhD

INTRODUZIONE

Grazie agli importanti progressi della medicina veterinaria degli ultimi decenni, sempre più frequentemente, pazienti considerati critici e più in generale cani anemici o affetti da alterazioni emostatiche, possono essere trattati con la somministrazione di sangue intero o di suoi componenti¹(Tabella 1). Questi prodotti biologici costituiscono una risorsa terapeutica preziosa e limitata che, tuttavia, accanto a vantaggi importanti può comportare anche rischi concreti². Attualmente la medicina trasfusionale è considerata una disciplina medica emergente sia in medicina umana, sia in medicina veterinaria, il cui costante progresso scientifico è finalizzato soprattutto ad apportare un miglioramento della qualità e dell'appropriatezza del trattamento trasfusionale^{3,4,5,6,7}. In particola-

re, in medicina umana sono numerose le sperimentazioni cliniche e gli studi di meta-analisi che cercano di stabilire con evidenza scientifica linee guida utili al clinico nella scelta di quale prodotto somministrare e con quali modalità³. Il sangue fresco intero (conservato per un periodo inferiore alle 8 ore) permette di apportare al ricevente tutti i componenti ematici fisiologicamente presenti nel donatore: globuli rossi, globuli bianchi, piastrine e proteine plasmatiche (prevalentemente fattori della coagulazione e altre proteine emostatiche, albumine e immunoglobuline). Sia in ambito umano, sia veterinario, l'utilizzo di emocomponenti garantisce invece al ricevente

**Tabella 1 - Sangue intero ed emocomponenti.
Modalità di stoccaggio e principali indicazioni dei prodotti trasfusionali**

Prodotto	Stoccaggio	Indicazioni
Sangue fresco intero	< 8 ore temperatura ambiente	Anemia associata ad alterazioni emostatiche primarie e secondarie
Sangue fresco intero	refrigerazione a 4°C < 24 h	Anemia associata ad alterazioni dell'emostasi secondaria
Sangue intero conservato	28 giorni refrigerazione a 4°C	Anemia e contestuale ipoprotidemia
Globuli rossi concentrati	Variabile a seconda di soluzioni nutrienti (< 35 giorni) refrigerazione a 4°C	Anemia
Plasma ricco di piastrine/ concentrati piastrinici	1-5 giorni (costantemente mantenuti in movimento) temperatura ambiente	Trombocitopenia associata a severe diatesi emorragiche
Plasma fresco congelato	1 anno congelamento (-20°C / -40°C)	Carenze dei fattori della coagulazione o alterazioni dell'emostasi secondaria; ipoproteinemia
Plasma fresco conservato	> 1 anno e < 5 anni congelamento (-20°C / -40°C)	Ipoprotidemia
Crioprecipitato	1 anno congelamento (-20°C / -40°C)	Malattia di von Willebrand; emofilia A; ipoprotidemia
Criosurnatante	1 anno congelamento (-20°C / -40°C)	Ipoprotidemia, coagulopatie secondarie alla carenza di fattore II, VII, IX, XI

un supporto più mirato alle sue necessità e talvolta più sicuro in termini di stimolazione antigenica o sovraccarico circolatorio, oltre a consentire una miglior ottimizzazione della donazione⁸.

La decisione di trasfondere o meno un paziente si deve basare su una valutazione complessiva ed appro-

La decisione di trasfondere o meno un soggetto si deve basare su una valutazione clinica e clinico-patologica complessiva ed approfondita, non esistono infatti regole o indicatori standard.

fondita della storia clinica del soggetto, dei sintomi, delle determinazioni clinico-patologiche, oltre che sulla comprensione dei meccanismi patogenetici della malattia sottostante, e sulla conoscenza dei rischi legati al trattamento trasfusionale^{9,10,11}. Per quanto riguarda la realtà della medicina trasfusionale veterinaria italiana, purtroppo ad oggi, le possibilità di utilizzo degli emocomponenti sono limitate dalla normativa vigente e dalle poche strutture autorizzate alla loro produzione.

TRASFUSIONE DI GLOBULI ROSSI

L'indicazione più comune per la trasfusione di globuli rossi nel cane (sangue intero fresco o conservato e globuli rossi concentrati) è rappresentata dall'anemia; altre indicazioni minori sono l'apporto di ferro (1 ml di emazie concentrate apporta circa 1mg di ferro)⁹, e l'amplificazione dell'emostasi primaria, favorita dal miglioramento dell'adesione fra le piastrine e l'endotelio e dal rilascio di ADP^{1,9}. I globuli rossi sono indicati per aumentare rapidamente l'apporto di ossigeno ai tessuti quando la concentrazione di emoglobina o il valore ematocrito sono bassi, la capacità ossiforetica è ridotta, e in presenza di meccanismi fisiologici di compenso inadeguati. La finalità di una trasfusione di globuli rossi è la correzione o la prevenzione di uno stato di ipossia tissutale, pertanto il parametro decisionale sul quale basarsi (*c.d. transfusion trigger*), dovrebbe teoricamente essere rappresentato dalla misurazione della pressione parziale dell'ossigeno (pO₂) intracellulare del paziente. Concentrazioni di emoglobina ([Hgb]), di ematocrito (Hct) e numero di globuli rossi, rappresentano indicatori più facilmente utilizzabili in ambito clinico e quelli sui quali tuttora ci si basa¹². In particolare, la letteratura trasfusionale umana si riferi-

sce a concentrazioni emoglobiniche, mentre in medicina veterinaria è più usuale parlare di valore ematocrito, anche se i due parametri sono ovviamente interconnessi (empiricamente, in presenza di globuli rossi con contenuto emoglobinico nell'intervallo di normalità, il valore ematocrito espresso in percentuale si può ottenere dalla concentrazione di emoglobina, moltiplicando questo dato per tre)¹³. In passato in medicina umana una [Hgb] ≤10 g/dL era considerata indicativa della necessità di una trasfusione di globuli rossi (**strategia trasfusionale liberale**), mentre oggi questo concetto è stato messo in discussione a causa dell'apparente maggiore rischio di mortalità e morbilità nei pazienti trasfusi^{7,14}. Attualmente si tende a ridurre questo valore soglia^{10,15} e si parla di **strategie trasfusionali restrittive** (Tabella 2)¹⁶. A questo riguardo, in diversi contesti (paziente traumatizzato, chirurgico, neoplastico, pediatrico o settico)^{14,16,17,18,19,20}, entrambe le strategie trasfusionali sono state messe a confronto, ma il beneficio di valori soglia cosiddetti liberali ([Hgb]=10 g/dL) rispetto a valori soglia restrittivi ([Hgb]≤7 g/dL), o viceversa, non è ancora stato dimostrato univocamente. Dalle numerose sperimentazioni cliniche e dagli studi di meta-analisi condotti nell'ultimo decennio, infatti, quello che emerge è piuttosto la limitatezza dell'utilizzo di Hct e [Hgb] quali singoli indicatori delle necessità trasfusionali del paziente^{9,21}. Dal punto di vista veterinario tali considerazioni non sembrano essere particolarmente finalizzabili a causa della limitatezza delle risorse trasfusionali che generalmente circoscrivono la trasfusione di globuli rossi a pazienti con valori di Hct drammaticamente bassi (< 12%), tuttavia, permettono, anche al medico veterinario di comprendere la necessità di una valutazione complessiva e dinamica del paziente per il quale si pone l'opzione trasfusionale^{7,9}. La volemia del soggetto, la presenza di meccanismi compensatori (Tabella 3 e Tabella 4), l'integrità del sistema cardiocircolatorio, le necessità di ossigeno tissutale, o ancora la presenza di patologie pregresse o co-morbilità a carico di organi particolar-

Tabella 3 - Meccanismi compensatori che si sviluppano fisiologicamente nel paziente in seguito all'instaurarsi di una condizione di anemia

Meccanismi fisiologici di adattamento all'anemia	
↑ gittata cardiaca	
↑ del flusso arterioso coronarico	
Ridistribuzione del flusso ematico	
↑ Aumento dell'estrazione tissutale di ossigeno	
↑ 2,3-difosfoglicerato eritrocitario	

Tabella 2 - Strategia restrittiva della trasfusione di globuli rossi in medicina umana per pazienti con anemia normovolemica

Valore soglia di Hgb	Indicazioni attuali in medicina umana (strategia trasfusionale restrittiva)
Hgb < 6 g/dL	necessario
Hgb 6-8 g/dL	necessario solo se presenti fattori di rischio o segni di ipossia
Hgb 8-10 g/dL	necessario solo se presenti segni di ipossia
Hgb >10 g/dL	non indicato

Adattato da SIMTI (Società Italiana di Medicina Trasfusionale e di Immunoematologia).

Liumbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Recommendations for the transfusion management of patients in the peri-operative period. II. The intra-operative period. *Blood Transfus* 9: 189-217, 2011.

Globuli rossi sono indicati per aumentare rapidamente l'apporto di ossigeno ai tessuti quando la concentrazione di emoglobina o il valore ematocrito sono bassi e i meccanismi fisiologici di compenso non sono efficaci.

mente sensibili al danno ipossico (ad esempio encefalo, rene e lo stesso cuore), necessità anestesiolgiche e chirurgiche, sono alcuni fra i più importanti aspetti che è necessario considerare prima di decidere se e quando somministrare globuli rossi al paziente¹². Animali che presentano anemia ad insorgenza acuta potrebbero dover essere trasfusi con valori di Hct fra il 20 e il 25%, mentre cani affetti da forme croniche di anemia possono non richiedere trattamenti trasfusionali sino a valori di ematocrito molto bassi (10-12%), grazie allo sviluppo di meccanismi compensatori co-

Tabella 4 - Meccanismi attraverso i quali comorbilità presenti possono alterare i meccanismi compensatori dell'anemia

Condizioni cliniche che alterano i meccanismi fisiologici di adattamento all'anemia	
↓ incremento dell'output cardiaco	Ipovolemia, patologie valvolari cardiache, cardiopatia
↓ capacità di estrazione dell'ossigeno	ARDS, SIRS, sepsi, danno da riperfusione
Alterato scambio gassoso	ARDS, bronco-pneumopatia
↑ del consumo di O ₂	SIRS, sepsi, ipertermia, dolore

ARDS: (acute respiratory distress syndrome) sindrome da distress respiratorio acuto; O₂: ossigeno; SIRS: (systemic inflammatory response syndrome) sindrome da risposta infiammatoria sistemica.

me l'aumento della ventilazione, l'aumento della quota di O₂ cedibile ai tessuti, il progressivo aumento della gittata cardiaca e della volemia⁹. In corso di anemia emorragica acuta, per esempio, la principale strategia terapeutica è la prevenzione o la correzione dello shock ipovolemico. Per assicurare l'ossigenazione tissutale del paziente è fondamentale ripristinare la volemia mediante l'infusione di cristalloidi e/o colloidi in quantità sufficiente a mantenere adeguato il flusso ematico e la pressione sanguigna. È importante ricordare, inoltre, che i pazienti con emorragia acuta possono inizialmente presentare valori di Hct all'interno dell'intervallo di riferimento (a causa della perdita in toto di globuli rossi e componente plasmatica), o addirittura elevati, finché il volume plasmatico non è ripristinato; in questa condizione diventano quindi estremamente importanti altri indicatori clinici e clinico-patologici del paziente quali aspetto delle mucose e tempo di riempimento capillare (TRC), frequenza cardiaca, pressione arteriosa sistemica, saturazione venosa di ossigeno e concentrazione dei lattati ematici. La frequenza respiratoria o l'emogasanalisi arterioso pos-

che si sviluppa in questo contesto e che limita i meccanismi compensatori fisiologici. Tali condizioni, infatti, rendono maggiormente suscettibili all'ipossia distretti come quello cardiocircolatorio, respiratorio o renale^{25,26}.

In corso di anemia emolitica immunomediata (*immune-mediated hemolytic anemia*, IMHA) il trattamento trasfusionale con globuli rossi è stato molto dibattuto. Generalmente, in questa tipologia di pazienti si consiglia di effettuare trattamenti trasfusionali coerenti con le necessità individuali del soggetto, valutate attraverso i parametri clinici e clinico-patologici precedentemente descritti, idealmente dopo l'aver instaurato una adeguata terapia immunosoppressiva¹. In corso di IMHA, inoltre, un recente studio veterinario ha evidenziato come globuli rossi stoccati per periodi prolungati possano essere meno benefici e soprattutto meno sicuri, rispetto a globuli rossi stoccati per periodi inferiori ai 7 giorni²⁶. La trasfusione di globuli rossi stoccati per periodi prolungati, in medicina umana, sembra infatti essere associata ad una maggiore emolisi²⁸, ad aumento del danno ossidativo e all'amplificazione della secrezione di citochine^{29,30} dell'attivazione endoteliale e del rischio trombotico nel ricevente³⁰.

Il sangue intero fresco è potenzialmente indicato nelle anemie complicate da alterazioni dell'emostasi primaria e/o secondaria, in presenza di diatesi emorragica.

sono essere utili nel valutare pazienti con patologie respiratorie concomitanti che potrebbero incidere sull'ossigenazione complessiva. Ancora, una valutazione elettrocardiografica può svelare la presenza di un insulto ipossico cardiaco subclinico. È infine importante considerare sempre il contesto clinico nel quale si opera e le diverse strategie trasfusionali che questo può suggerire⁷. Cani sottoposti a interventi chirurgici, per esempio, dovrebbero essere stabilizzati con globuli rossi fino ad un Hct di almeno il 20% per mantenere una adeguata capacità di trasporto dell'ossigeno durante l'anestesia¹. In medicina umana, l'anemia nel paziente chirurgico rappresenta una condizione frequente e si associa ad aumentata morbilità e mortalità²². L'anemia peri-operatoria e l'aumentato fabbisogno trasfusionale che ne deriva sono fattori di rischio indipendenti per infezioni postoperatorie e prolungamento della degenza ospedaliera²³, mentre concentrazioni più elevate di emoglobina correlano con un più precoce recupero funzionale nel periodo postoperatorio²⁴. In medicina umana pazienti affetti da shock settico necessitano di essere trasfusi a valori soglia maggiori a causa dell'alterata perfusione tissutale che si realizza in questa condizione e della sindrome da disfunzione multi organica (*multiple organ dysfunction syndrome*, MODS)

SANGUE INTERO E GLOBULI ROSSI CONCENTRATI

La somministrazione di globuli rossi concentrati si presta al trattamento sintomatico di ogni tipologia di anemia, tuttavia il sangue intero può essere considerato la prima scelta in alcune specifiche situazioni. Se conservato meno di 8 ore a temperatura ambiente il sangue intero è in grado di trasmettere al ricevente oltre ai globuli rossi anche piastrine e fattori emostatici in elevata concentrazione⁸. Potenziali indicazioni per l'utilizzo del sangue intero fresco sono anemie complicate da alterazioni dell'emostasi secondaria (ad esempio grave emorragia con consumo e perdita dei fattori della coagulazione, avvelenamento da rodenticidi anticoagulanti se associato a gravi perdite ematiche e anemia grave), anemie associate a disturbi dell'emostasi primaria (trombocitopenia/ trombocitopenia) in presenza di diatesi emorragica. Se la trombocitopenia, infatti, non è sintomatica generalmente la trasfusione di piastrine è sconsigliata poiché presenta un importante potere immunogeno a fronte di un'efficacia minima ed una breve emivita delle piastrine trasfuse⁹. Il sangue intero stoccato oltre le 8 ore contiene proteine plasmatiche e globuli rossi, ma non fattori della coagulazione o piastrine funzionali⁸. Una possibile indicazione per questo prodotto potrebbe essere rappresentata per esempio dalla concomitanza di anemia e ipoprotidemia, quale quella che si può manifestare in corso di sanguinamenti gastro-intestinali (Tabella 1)⁹.

TRASFUSIONE DI COMPONENTI PLASMATICI

Il plasma fresco congelato contiene numerose proteine coinvolte nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo, ma generalmente è somministrato in virtù del suo apporto di proteine emostatiche, albumina e immunoglobuline¹. Fra le proteine emostatiche ricordiamo, oltre ai fattori della coagulazione necessari per la trasformazione del fibrinogeno plasmatico in fibrina e al fibrinogeno stesso, proteine implicate nell'adesione piastrinica (fattore di von Willebrand), proteine anticoagulanti (antitrombina, proteina C e proteina S) e fibrinolitiche (plasminogeno e le sue proteine regolatrici)³². Oltre ad essere indicato per la prevenzione o la gestione della diatesi emorragica in pazienti con difetti congeniti o acquisiti dell'emostasi, il plasma può essere quindi somministrato in pazienti con gravi ipoalbuminemie e ipoglobulinemie, seppur con risultati non sempre soddisfacenti^{1,32,33} (Tabella 5).

PATOLOGIE EMOSTATICHE EREDITARIE

Il plasma e suoi componenti sono frequentemente utilizzati per il controllo della diatesi emorragica o per la prevenzione del sanguinamento intra-operatorio, in soggetti affetti da patologie emostatiche congenite (carenze di specifici fattori della coagulazione, malattia di von Willebrand)³². Nella maggior parte dei casi, una terapia appropriata con questi componenti riduce le necessità di globuli rossi del paziente e con essa la probabilità di sviluppare sensibilizzazione agli antigeni eritrocitari trasfusi³². Le necessità trasfusionali di un paziente variano in base alla tipologia del difetto, al ruolo fisiologico del fattore mancante, alla gravità della carenza e dell'eventuale presenza di sanguinamento attivo. Per esempio, emofilia A e B spesso sono asso-

ciate a gravi diatesi emorragiche, mentre la carenza del fattore VII può essere subclinica e la diatesi emorragica lieve¹. Nel cane esistono diverse forme di malattia di von Willebrand (tipo I, II e III), caratterizzate da disfunzioni o decrementi di entità variabile di questa glicoproteina. Malattia di von Willebrand, emofilia A ed ipofibrinogenemia possono essere trattate con plasma fresco congelato, ma è il crioprecipitato l'emocomponente di prima scelta, grazie all'elevata concentrazione dei fattori richiesti, ai piccoli volumi, ed alla rapidità terapeutica. Le carenze congenite di tutti gli altri fattori della coagulazione possono essere invece corrette con plasma fresco congelato o criosurnatante³⁴. Difetti congeniti della funzionalità piastrinica (per esempio tromboastenia di Glanzmann o ematopoiesi ciclica), sono generalmente trattati, in presenza di diatesi emorragica o in regime di prevenzione del sanguinamento peri-operatorio, con plasma ricco di piastrine o concentrato piastrinico³⁵. In assenza di questi prodotti, il plasma fresco congelato o il criosurnatante possono essere considerati un'alternativa percorribile. Entrambi questi prodotti possiedono, infatti, frammenti piastrinici funzionali, e inoltre potenziano l'emostasi secondaria³⁶. In medicina umana, oltre agli emocomponenti citati, le patologie emostatiche congenite sono trattate con desmopressina (1-deamino-8-D-arginine vasopressin - DDAVP). La DDAVP favorisce il rilascio dalle cellule endoteliali del fattore di von Willebrand, e determina un suo aumento in circolo unitamente ad un incremento del FVIII. DDAVP rappresenta il trattamento di scelta nei pazienti con emofilia A moderata e lieve, e nelle forme responsive di malattia di von Willebrand, tuttavia la sua efficacia terapeutica ha la durata di alcune ore e la sua somministrazione nel periodo prolungato non risulta utile a causa del depauperamento delle riserve di

Tabella 5 - Plasma e suoi componenti, dosaggi suggeriti ed indicazioni cliniche

Prodotto	Dosaggio indicato	Indicazioni
Plasma ricco di piastrine/ concentrati piastrinici ∞	1 unità ogni 10 kg q 4-12 h	Trombocitopenia associata a diatesi emorragica
Plasma fresco congelato	6-12 ml/kg q 8-12 h	Carenze dei fattori della coagulazione congenite o acquisite; ipoprotidemia
Plasma congelato	12-20 mL/kg q12-24 h	Ipoprotidemia
Crioprecipitato *	1 unità ogni 10 kg q 4-12 h	Malattia di von Willebrand; emofilia A; ipofibrinogenemia, ipoprotidemia
Criosurnatante *	6-12 mL/kg q12-24 h	Carenza di vitamina K; coagulopatie secondarie alla carenza dei fattori II, VII, IX (emofilia B), XI; ipoprotidemia

∞: 1 unità di plasma ricco di piastrine o concentrato piastrinico standard si considera prodotta a partire da una unità di sangue intero fresco di circa 450 ml; *: 1 unità di crioprecipitato standard si considera ottenuta da una unità di plasma fresco congelato di circa 200 ml.

fattore von Willebrand endocellulare. L'utilizzo di questo prodotto riveste particolare importanza in quanto consente di limitare le necessità trasfusionali del paziente^{37,38} umano e veterinario. In ambito umano inoltre, la DDAVP, è stata spesso utilizzata in pazienti con deficit congeniti della funzione piastrinica, ma non esistono evidenze che dimostrino la sua efficacia in queste condizioni³⁸.

PATOLOGIE EMOSTATICHE ACQUISITE

Il plasma fresco congelato generalmente è somministrato in virtù del suo apporto di proteine emostatiche, albumina e immunoglobuline.

Nella pratica clinica, le patologie emostatiche acquisite sono decisamente più frequenti rispetto ai disturbi congeniti. Queste patologie si sviluppano in seguito alla concomitante carenza di più fattori della coagulazione e proteine emostatiche, o per alterazioni della funzionalità e della concentrazione piastrinica. Alterazioni acquisite della coagulazione si realizzano in corso di patologie associate a ridotta sintesi e/o ridotta attivazione dei fattori della coagulazione³⁹, o in corso di patologie che determinano un elevato consumo di tutte le proteine emostatiche^{40,41}, un'elevata perdita, emodiluizione o in seguito alla presenza di inibitori specifici (Tabella 6). L'utilità del plasma in molti di questi contesti è fortemente dibattuta e oggetto di studio, sia in ambito umano, sia veterinario⁶.

In corso di avvelenamento con anticoagulanti cumarini (rodenticidi anticoagulanti), la trasfusione con plasma fresco congelato o con criosurnatante rappresenta la terapia d'elezione, soprattutto se si è in presenza di gravi sanguinamenti, o sanguinamenti a carico di apparati considerati critici (ad esempio apparato respiratorio o sistema nervoso centrale). Quando possibile, l'avvelenamento è trattato con l'esclusiva somministrazione di vitamina K₁ (fitomenadione) la cui attività si compie generalmente nell'arco di 12/24 ore completando la funzionalità dei fattori della coagulazione³².

Le alterazioni della funzione epatica possono associarsi, oltre che all'interruzione del ciclo della vitamina K e all'inibizione dei meccanismi di attivazione dei fattori vitamina K dipendenti (fattore II, VII, IX e X), anche alla mancata sintesi di altre importanti proteine emostatiche pro- e anti-coagulanti. Mentre l'utilizzo della vitamina K è spesso incluso nel protocollo terapeutico dei pazienti con insufficienza epatica, la somministrazione del plasma è, almeno in medicina umana, limitata ai pazienti epatopatici che presentino segni di sanguinamento, o al contesto peri-operatorio^{32,39, 42}.

Quanto appena descritto per le coagulopatie secondarie ad epatopatia si può applicare anche a sindromi emostatiche complesse quali la coagulopatia intravasale disseminata (CID). In medicina umana, le linee guida sul corretto utilizzo degli emocomponenti prevedono che la somministrazione di componenti plasmatici sia riservata a pazienti con un sanguinamento attivo o in previsione di interventi chirurgici, con l'obiettivo di fornire una fonte a breve termine di proteine emostatiche⁶. In medicina veterinaria l'utilizzo di plasma fresco congelato in corso di CID, ma anche in corso di pancreatite, parvovirus o IMHA è stato spesso discusso ed associato ad un potenziale beneficio, tuttavia non vi è ancora una forte evidenza scientifica che ne supporti la somministrazione o che ne documenti l'efficacia nel prevenire, in queste patologie, una condizione di ipocoagulabilità e una prognosi peggiore^{1,6,32}.

Le coagulopatie trauma-indotte rappresentano un ulteriore ambito di impiego dei componenti plasmatici. La complessità dei meccanismi patogenetici sottostanti, unitamente alla necessità di individuare fattori prognostici clinico-patologici applicabili in questo contesto, sono oggetto di studio sia in ambito umano, sia veterinario^{40,41}. In medicina veterinaria, tuttavia, la limitatezza delle risorse trasfusionali spesso non permette di effettuare la terapia di supporto prevista. La coagulopatia trauma-indotta, costituita da una condizione simultanea di ipocoagulabilità e iperfibrinolisi, si realizza generalmente da pochi minuti fino a 24 ore da un grave evento traumatico e in medicina umana è trattata con elevati quantitativi di plasma fresco congelato, concentrati piastrinici e crioprecipitati (per pazienti con concentrazioni di fibrinogeno inferiori ad 1 g/l)^{43,44}.

Tabella 6 - Coagulopatie acquisite, meccanismi patogenetici

Patogenesi	Patologia/Sindrome
Difetti di sintesi dei fattori della coagulazione	Insufficienza epatica (epatopatie, shunt porto sistemici)
Difetto di attivazione dei fattori vitamina K dipendente	Colestasi Malassorbimento intestinale Avvelenamento anticoagulanti cumarini
Eccessivo consumo	Coagulopatia intravasale disseminata Coagulopatia trauma indotta
Meccanismi inibitori	Anticorpi anti-fattori Anticorpi anti-fosfolipidi (associati a trombosi) Sovradosaggio eparinico
Iperfibrinolisi	Coagulopatia trauma indotta Coagulopatia intravasale disseminata Coagulopatia paraneoplastica

Adattata da Brooks MB, 2012.

IPOPROTIDEMIE

Condizioni di ipoprotidemia o ipoalbuminemia possono svilupparsi in seguito a diverse patologie quali enteriti proteino-disperdenti, insufficienza epatica, glomerulopatie, vasculiti, gravi patologie infettivo/infiammatorie. La finalità del trattamento trasfusionale nella maggior parte di questi casi è quella di ripristinare una adeguata concentrazione di albumine. In medicina umana l'utilizzo di concentrati albuminici rappresenta il trattamento terapeutico elettivo. Seppure efficace, la somministrazione di albumina umana nel cane non è sempre incentivata a causa della differenza antigenica interspecifica, che rende questo prodotto immunogeno e potenzialmente causa di reazioni avverse³². Concentrati albuminici canini sono presenti sul mercato estero, ma l'elevato costo fa sì che il loro impiego sia ancora limitato nella nostra pratica clinica. Plasma fresco congelato, plasma congelato e criosurnatante contengono albumina ed altre proteine e possono essere utilizzati come possibili trattamenti sostitutivi in corso di ipoprotidemia. Per apportare incrementi proteici anche modesti, tuttavia, sono richiesti elevati volumi di queste soluzioni (20-25 ml/kg di plasma per indurre un incremento di circa 0,5 g/dl di albumina, in pazienti stabili)³².

VALUTAZIONI IMMUNOEMATOLOGICHE PRE-TRASFUSIONALI (tipizzazione e prove di compatibilità crociata)

Come precedentemente anticipato, a fronte dell'utilità terapeutica del sangue intero e dei suoi componenti è sempre necessario ricordare i potenziali rischi associati alla somministrazione di questi prodotti². In particolare, una parte delle problematiche associate al trattamento trasfusionale può essere prevenuta attraverso una attenta valutazione di natura immunoematologica sia del ricevente, sia del donatore¹. La valutazione del gruppo sanguigno (in particolare per il cane ci riferiamo alla presenza o meno dell'antigene eritrocitario DEA 1 *Dog Erythrocyte Antigen*), deve essere effettuata regolarmente nell'ambito di una corretta procedura trasfusionale, al fine di evitare la sensibilizzazione di soggetti DEA 1 negativi e ridurre il rischio di reazioni trasfusionali⁸. Negli ultimi decenni sono stati realizzati kit con buona sensibilità e specificità, a uso ambulatoriale, per l'individuazione dell'antigene DEA 1; questi test sono rapidi, di semplice esecuzione e interpretazione e relativamente economici. Fra le varie opzioni ricordiamo test di emoagglutinazione e test immunocromatografici. Entrambe le tipologie di test possono evidenziare diversi gradi di intensità (positività) e, in particolare, per i test basati sul principio di emoagglutinazione, generare alcuni dubbi interpre-

tativi⁴⁵. L'utilizzo di questi test deve avvenire inoltre con cautela in pazienti caratterizzati da valori di ematocrito inferiori al 10% (falsi negativi), trasfusi recentemente (a causa della presenza transitoria degli antigeni eritrocitari del donatore) o in presenza di emoagglutinazione come avviene in corso di anemie emolitiche immunomediata. La presenza di emoagglutinazione vera (persistente dopo il lavaggio ripetuto fino a tre volte dei globuli rossi con soluzione fisiologica), infatti, preclude l'utilizzo dei test di emo-

La valutazione del gruppo sanguigno DEA 1 deve essere effettuata regolarmente al donatore e al ricevente al fine di evitare la sensibilizzazione di soggetti DEA 1 negativi e ridurre il rischio di reazioni trasfusionali.

agglutinazione e potrebbe interferire anche con test immunocromatografici^{45,46}. Le prove di compatibilità crociata, anche conosciute come *cross-matching* o *prove major e minor*, hanno lo scopo di individuare la presenza di anticorpi che potrebbero esitare nell'agglutinazione delle emazie e/o nell'emolisi del campione (sia del ricevente che del donatore) (Box 1). La presenza di auto-agglutinazione o emolisi marcata in uno dei due campioni preclude la possibilità di effettuare anche questa prova (Figura 1). Prerogativa della specie canina è quella di non presentare spontaneamente anticorpi nei confronti degli antigeni eritrocitari non propri (anticorpi naturali), ma di richiedere di una precedente sensibilizzazione (per esempio un tratta-

MAJOR:

globuli rossi del donatore + plasma/siero del ricevente

evidenzia la presenza di anticorpi nel plasma del ricevente diretti contro antigeni eritrocitari del donatore

MINOR:

globuli rossi del ricevente + plasma/siero del donatore

evidenzia la presenza di anticorpi nel plasma del donatore diretti contro antigeni eritrocitari del ricevente

Box 1 - Prove di compatibilità crociata fra donatore e ricevente; le prove evidenziano una reazione emolitica o di agglutinazione che svela la presenza di anticorpi (agglutinine e/o emolisine) anti-antigeni eritrocitari presenti nel plasma/siero del ricevente (*major*), o del donatore (*minor*).

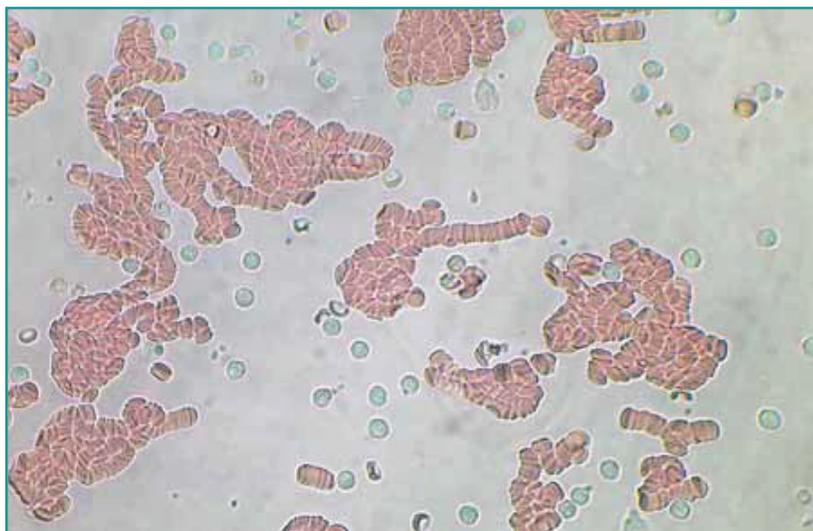


Figura 1 - Esempio di agglutinazione microscopica evidenziata durante l'esecuzione delle prove di compatibilità in un paziente politrasfuso. In questo caso il preparato è stato allestito dopo lavaggio ripetuto dei globuli rossi del donatore e loro ri-sospensione con il plasma del ricevente (prova major), secondo la procedura precedentemente descritta.

mento trasfusionale) per produrli. Per questo motivo le prove di compatibilità sono comunque e sempre consigliate, ma considerate indispensabili dopo il primo trattamento trasfusionale, prima di effettuare un secondo. È importante ricordare come le prove di compatibilità non diano informazioni riguardo gli specifici antigeni eritrocitari presenti nei due soggetti coinvolti, e non prevenivano necessariamente successive sensibilizzazioni nel ricevente (sviluppo di anticorpi diretti verso antigeni eritrocitari, leucocitari o piastrinici non self). Per questo motivo, soggetti precedentemente trasfusi, devono sempre essere sottoposti a prove di compatibilità pre-trasfusionali, anche quando ricevono sangue da uno stesso donatore, e non sono considerati candidati idonei per poter diventare futuri donatori di sangue^{46,47}.

SOMMINISTRAZIONE DEI PRODOTTI TRASFUSIONALI

Dopo aver scelto il prodotto più adeguato in base alle necessità cliniche ed immunoematologiche del ricevente, si può procedere al trattamento trasfusionale, purtroppo, nei limiti della disponibilità di questi prodotti sul territorio. È importante ricordare infatti che, ad oggi, per la normativa italiana gli emocomponenti sono equiparati a farmaci. In Italia, plasma fresco congelato e concentrati di globuli rossi, per esempio, possono essere prodotti solo nell'ambito di progetti di ricerca riconosciuti dal ministero della salute, o da officine farmaceutiche autorizzate.

Le unità di globuli rossi concentrati o di sangue intero possono essere somministrate senza previo riscalda-

mento, che può essere effettuato solo nel caso in cui il ricevente sia un soggetto ipotermico, neonato oppure nel caso di infusione di elevati volumi di sangue. In questi casi il riscaldamento può avvenire tramite immersione della sacca in acqua distillata (l'unità deve essere adeguatamente rivestita e protetta per evitare il contatto con il liquido riscaldante) o tramite incubatori a temperatura controllata $\leq 37^{\circ}\text{C}$ ⁹. Bagnomaria e incubatori rappresentano anche le modalità di scongelamento dei prodotti plasmatici, tuttavia, sia per prodotti eritrocitari, sia plasmatici il controllo della temperatura è fondamentale⁴⁸. Un eccessivo riscaldamento può infatti determinare emolisi o proteolisi riducendo l'efficacia del prodotto e aumentando i rischi ad esso associati³². Il trattamento trasfusionale può avvenire attraverso qualsiasi accesso venoso, utilizzando preferibilmente un catetere di grande calibro per

ridurre il rischio di emolisi del prodotto. Se non è disponibile alcun accesso venoso (paziente neonatale o in gravi condizioni di shock emodinamico) si può procedere per via intraossea o più raramente intraperitoneale. La somministrazione di sangue ed emocomponenti deve avvenire sempre attraverso l'impiego di deflussori muniti di microfiltri dedicati per la rimozione di detriti

La somministrazione di sangue ed emocomponenti deve avvenire sempre attraverso l'impiego di deflussori muniti di microfiltri dedicati e deve essere attentamente monitorata.

o microaggregati cellulari che potrebbero causare tromboembolismo nel ricevente⁹; i filtri dovrebbero essere rimossi e sostituiti ogni 4/6 ore per ridurre il rischio di contaminazione batterica. La somministrazione di sangue intero o prodotti a base di eritrociti concentrati attraverso pompe ad infusione potrebbe non essere indicata e condurre ad una maggior emolisi delle cellule trasfuse anche se gli studi al riguardo sono scarsi^{9,49}. Sangue intero e prodotti plasmatici possono essere somministrati tal quali, mentre globuli rossi concentrati, generalmente sono infusi unitamente a soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), in virtù della loro maggiore viscosità, soprattutto se conservati in assenza di soluzione nutriente. Nessun'altra soluzione infusionale o sostanza farmaceutica deve essere somministrata tramite la stessa via del trattamento trasfusionale. Le unità aperte e parzialmente utilizzate devono essere impiegate nel minor tempo possibile e comunque entro le 24 ore per ridur-

re il rischio di contaminazione e proliferazione batterica⁹. Dopo l'apertura dell'unità, anche se solo parzialmente utilizzati, sangue ed emocomponenti non devono in alcun modo essere conservati refrigerati, ma devono essere eliminati⁴⁸.

La somministrazione di sangue ed emocomponenti deve avvenire molto lentamente nei primi 5 minuti (dose iniziale 3-5 ml in 5 minuti), e solo in assenza di complicazioni è possibile aumentare la velocità di infusione; questa sarà determinata dalle necessità cliniche e soprattutto emodinamiche del nostro paziente (Box 2)¹. Per quanto concerne il volume totale somministrabile, anche questo varierà a seconda della condizione clinica sottostante. Generalmente prodotti a base di eritrociti possono essere somministrati in volumi variabili dai 10 a 22 ml/kg, e comunque fino al ripristino del valore ematocrito atteso (Box 3)⁹. I prodotti plasmatici invece possono essere trasfusi a volumi pari a 10-15 ml/kg anche ogni 8-12 h, fino a che la causa della coagulopatia non sia stata controllata^{1,32}. Il monitoraggio del paziente trasfuso dovrebbe avvenire ogni 5-10 minuti nella prima mezz'ora dall'inizio della trasfusione e in seguito ad intervalli maggiori, secondo le indicazioni di un'apposita scheda di monitoraggio⁵⁰ (Figura 2a, Figura 2b).

Le reazioni trasfusionali sono classificate in acute o tardive, in relazione al momento di insorgenza, e in immunomEDIATE e non-immunomEDIATE, a seconda del meccanismo patogenetico sottostante.

REAZIONI TRASFUSIONALI

Come riportato in precedenza, a fronte di un'innegabile potenziale terapeutico, i trattamenti trasfusionali sono associati ad un numero significativo e crescente di effetti avversi⁵⁰ (Figura 3a, Figura 3b). Diversi studi effettuati nel cane riportano una frequenza relativamente bassa di reazioni trasfusionali che variano dal 3 al 15%^{2,50,51,52,53}, ma tali reazioni potrebbero in realtà essere sottovalutate dal clinico a causa della complessità della presentazione clinica del paziente che necessita trasfusione⁵⁰. A titolo di esempio è possibile ricordare l'emolisi in pazienti affetti da IMHA, sintomi respiratori in pazienti affetti da sindrome da risposta infiammatoria sistemica (systemic inflammatory response syndrome, SIRS), o immunodepressione in pazienti affetti da patologie di natura infettiva. Classicamente le reazioni trasfusionali sono suddivise in acute o tardive, a seconda del momento di insorgenza, e in immunomEDIATE e non immunomEDIATE a seconda del meccanismo patogenetico sottostan-

Velocità di infusione iniziale: **0.25 ml/kg/h**
mantenere per i primi 15 minuti, in assenza di reazioni avverse impostare una velocità di infusione relativa alla condizione volemica del paziente:

Normovolemia	4-10 ml/kg/h
Ipervolemia (o in corso di patologie considerate a rischio: cardiopatie, nefropatie, ipertensione)	1-2 ml/kg/h
Ipovolemia (fino a condizioni di shock)	dosaggi rianimativi

Box 2 - Indicazioni per la scelta della velocità di somministrazione.

Volume complessivo del trattamento trasfusionale (ml):

volume ematico medio del cane x kg ricevente x [(HCT atteso - HCT ricevente) / HCT emocomponente]

Esempio: in un paziente di 10 kg con HCT di partenza di 13%, nel quale si vuole incrementare l'HCT di 10 punti % utilizzando sangue intero (HCT del prodotto = 50%)

$$90 \text{ ml} \times 10 \text{ kg} \times [(23-13)/50] = 180 \text{ ml}$$

HCT sangue intero: corrisponde al valore ematocrito (%) di partenza del donatore

HCT unità di PRBC risospese con soluzione nutriente ~ 60-75%

HCT unità di PRBC non risospese con soluzione nutriente ~ 85/90%

Box 3 - Formula per il calcolo del volume di sangue intero, o globuli rossi concentrati, da somministrare nel paziente anemico, sulla base dell'incremento del valore ematocrito desiderato. Hct: valore ematocrito (%); PRBC: globuli rossi concentrati.

te, anche se talvolta questi meccanismi possono essere contemporanei e compresenti determinando nel paziente la comparsa di una sintomatologia multifattoriale e di difficile interpretazione (Tabella 7).

Sia in medicina umana, sia in medicina veterinaria, la reazione trasfusionale più frequente è rappresentata dalla reazione febbrile non emolitica; questo tipo di reazione avversa sembra verificarsi a causa della presenza di globuli bianchi e piastrine, o proteine plasmatiche che inducono ipertermia e altri sintomi (frequentemente autolimitanti) attraverso una reazione di ipersensibilità, o attraverso una stimolazione prevalentemente citochinica. Questo tipo di reazione, generalmente di moderata enti-

REGISTRO TRATTAMENTO TRASFUSIONALE

NOME:
Specie: CANE GATTO EQUINO **Razza:**
Età: **Sesso:** F FS M MC

GRUPPO SANGUIGNO:
 TRASFUSIONI PRECEDENTI: sì no SE SÌ → DATA E TIPOLOGIA TRATTAMENTI
 GRAVIDANZE PRECEDENTI: sì no

PATOLOGIA ATTUALE **PRESENZA DI IPERTERMIA**
FARMACI IN USO: **ULTIMI 7 GIORNI:** sì no

EMOCOMPONENTE UTILIZZATO
 globuli rossi concentrati plasma fresco congelato sangue fresco
 crioprecipitato criosurnatante plasma ricco di piastrine **DURATA TRATTAMENTO:**
ML SOMMINISTRATI

Nome donatore:
 Barcode sacca.:
 Gruppo sanguigno donatore: Prove di compatibilità: sì no

Note:

Figura 2a

MONITORAGGIO RICEVENTE

Monitoraggio da effettuarsi a discrezione del medico responsabile del trattamento trasfusionale

Tempo	0'	15'	30'	1 hr	2 hr	4 hr	8 hr	12 hr	24 hr	48 hr	altro
T°											
BPM											
RPM											
BP											
Vomito											
Dispnea											
Edema											
Pigmenturia											
HCT											
PLT											
WBC											
PT											
aPTT											
AT											

Figura 2b

Figura 2 - Proposta di scheda di monitoraggio utilizzabile durante il trattamento trasfusionale. aPTT: tempo di tromboplastina parziale attivata; AT: antitrombina; BP (blood pressure): pressione arteriosa sistemica; BPM: battiti per minuto; HCT: valore ematocrito; PLT: piastrine; PT: tempo di protrombina; WBC: globuli bianchi; RPM: respiri per minuto; T°: temperatura.

verso il *cross-matching*. La reazione trasfusionale emolitica può verificarsi attraverso meccanismi emolitici intra- o extra-vascolari ed è confermata oltre che dalla sintomatologia clinica (emoglobinuria, biliribunuria, ittero), dal mancato incremento di Hct. In generale, la gravità delle reazioni trasfusionali (lieve, moderata, o grave) è spesso proporzionale al quantitativo di sangue trasfuso, alla tipologia e alla concentrazione degli anticorpi coinvolti e alla condizione patologica di partenza del cane ricevente⁵⁰. Una qualunque reazione trasfusionale deve essere diagnosticata rapidamente e trattata con la sospensione immediata dell'infusione e con la terapia sintomatica più opportuna; la premedicazione del paziente con corticosteroidi o antistaminici è poco supportata dalla letteratura veterinaria presente ed ulteriori studi saranno necessari per giustificare l'uso di questi farmaci². Alcune delle reazioni trasfusionali meno oggettivate e comprese nei pazienti veterinari², sono in realtà una causa ampiamente riconosciuta di aumentata mortalità nell'uomo (ad esempio danno acuto polmonare associato a trasfusione, *transfusion-related acute lung injury*, TRALI, o immunodepressione post trasfusionale) e sono alla base delle strategie trasfusionali restrittive adottate in medicina umana e descritte sinteticamente in questa review^{54,55,56}. In medicina veterinaria attualmente non sono stati pubblicati studi clinici che valutino in modo approfondito l'effetto del trattamento trasfusionale sulla morbilità e mortalità del ricevente^{51,2,6}.

In conclusione, anche nel cane, l'attenta valutazione delle reali necessità del paziente, lo screening pre-trasfusionale, i monitoraggi puntuali e consapevoli durante il trattamento trasfusionale, sono abitudini che devono essere praticate regolarmente e che possono migliorare lo standard terapeutico trasfusionale nell'attesa di raggiungere, sulla scia di quanto avviene in medicina umana, un maggior livello di comprensione di questa disciplina.

tà ed autolimitante non è prevenibile. Fra le altre reazioni trasfusionali più facilmente prevedibili, invece, ricordiamo la reazione emolitica acuta immunomediata che si può verificare in seguito all'infusione di globuli rossi. Questa complicazione è legata alla presenza nel ricevente di anticorpi diretti contro antigeni eritrocitari del donatore ed è generalmente secondaria ad una precedente sensibilizzazione, per cui potenzialmente svelabile attra-



Figura 3a



Figura 3b

Figura 3 - Esempi di reazioni avverse al trattamento trasfusionale:

3a. bilirubinemia evidenziabile attraverso valutazione macroscopica dei capillari con i quali è stato misurato il micro-ematocrito post trasfusionale del paziente; bilirubinuria, evidenziabile macroscopicamente nel campione di urine raccolte dopo il trattamento trasfusionale del paziente;

3b. angioedema clinicamente visibile, sviluppatosi nel paziente durante la somministrazione del trattamento trasfusionale.

Tabella 7 - Reazioni avverse al trattamento trasfusionale. Reazioni avverse acute si realizzano a partire da pochi minuti dall'inizio del trattamento fino a circa 24/48 ore dal suo termine. Reazioni avverse ritardate si evidenziano a partire da 48 ore fino a 7/14 giorni dal termine del trattamento

Immunologiche	Acute	<p>Reazione febbrile non emolitica (↑1°C rispetto alla temperatura iniziale mediato da anticorpi anti antigeni leucocitari o piastrinici e dal rilascio di citochine)</p> <p>Reazione emolitica (ipertermia, ittero, emoglobinemia, pigmenturia, ipertermia mancato incremento HCT)</p> <p>Reazione di Ipersensibilità di I tipo (angioedemi, rash cutanei sintomi gastroenterici, ipotensione, dispnea)</p> <p>TRALI (dispnea)</p>
	Ritardate	<p>Emolisi (decremento progressivo e precoce del valore ematocrito nei giorni successivi al trattamento trasfusionale)</p> <p>Trombocitopenia (può comparire fino a 7/14 giorni dopo il trattamento ed è associato alla presenza di petecchie ed eventi emorragici)</p> <p>Immunosoppressione (maggiore suscettibilità ad agenti infettivi)</p>
Non Immunologiche	Acute	<p>Sepsi (per contaminazione batterica dell'emocomponente: ipertermia, sintomi riferibili a sepsi)</p> <p>TACO (tachicardia, tachipnea, dispnea, ipertensione)</p> <p>Ipocalcemia (per eccesso di anticoagulante)</p> <p>Emolisi (da processazione, stoccaggio o somministrazione inappropriati: ittero, emoglobinemia, pigmenturia, ipertermia)</p>
	Ritardate	<p>Trasmissione di patologie infettive veicolate dal sangue intero o dall'emocomponente</p>

HCT: valore ematocrito %; TACO: (*transfusion-associated circulatory overload*) overload circolatorio associato a trasfusione; TRALI (*transfusion-related acute lung injury*): danno polmonare acuto associato a trasfusione.

PUNTI CHIAVE

- La scelta di quando effettuare il trattamento trasfusionale, l'evidenza scientifica della sua efficacia e la prevenzione dei rischi ad esso connessi, rappresentano gli aspetti maggiormente dibattuti in letteratura sia in ambito veterinario, sia umano.
- La finalità di una trasfusione di globuli rossi è la correzione dell'ipossia tissutale legata alla ridotta concentrazione di emoglobina. La scelta di trasfondere globuli rossi si deve basare su molteplici aspetti quali: rapidità dell'insorgenza dell'anemia, volemia, presenza di comorbidità e necessità di tipo anestesilogico.
- La somministrazione del plasma in medicina veterinaria non è ancora codificata da linee guida definite e scientificamente evidenti. In medicina umana, la somministrazione di questo componente è riservata a pazienti con un sanguinamento attivo o in previsione di interventi chirurgici.
- I prodotti plasmatici rappresentano terapie di supporto somministrate con la finalità di correggere transitoriamente deficit emostatici e possono essere trasfusi a volumi di 10-15 ml/kg idealmente ogni 8-12 h, fino al controllo del sanguinamento e della patologia sottostante.
- I trattamenti trasfusionali sono associati ad un numero significativo di effetti avversi; un attento *screening* immunoematologico pretrasfusionale (tipizzazione e prove di compatibilità), e un monitoraggio puntuale del paziente durante la trasfusione, sono strumenti fondamentali per prevenire e limitare i rischi.

Canine Transfusion Therapy part II. Indications, transfusion thresholds, administration and adverse reaction

Summary

Transfusions of blood or one of its components, are indicated for management of anemia, inherited or acquired coagulopathy, and rarely for conditions such as hypoproteinemia, thrombocytopenia, thrombocytopathia. Even though transfusion is generally safe and often necessary and lifesaving, it's associated with a significant and growing list of adverse events. The indications for transfusions need to be clearly determined and ideally only the deficient blood component must be replaced at the appropriate dosage, frequency and transfusion rate. A transfusion trigger has not been evidently defined in human or veterinary medicine. Different disease condition and clinical judgment are the ultimate factors in the decision to administer blood and blood components to a patient.

BIBLIOGRAFIA

1. Giger U. Transfusion therapy. In: Silverstein DC, Hopper K. Eds. Small Animal Critical Care Medicine. Second edition. St Louis, Missouri: Elsevier, 2015, pp 327-332.
2. Bruce JA, Kriese-Anderson L, Bruce AM, et al. Effect of premedication and other factors on the occurrence of acute transfusion reaction in dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 00 (0):1-10, 2015.
3. Carson JL, Carrel PA, Ebert PC. Transfusion thresholds and other strategies for guiding allogeneic red blood cell transfusion (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews* (4), 2012.
4. Straat ME, Müller M, Meijers J, et al. Effect of transfusion of fresh frozen plasma on parameters of endothelial condition and inflammatory status in non-bleeding critically ill patients: a prospective substudy of a randomized trial. *Critical Care* 19: 163-169, 2015.
5. Müller M, Arbous MS, Soestra-de Man AM, et al. Transfusion of fresh-frozen plasma in critically ill patients with a coagulopathy before invasive procedures: a randomized clinical trial (CME). *Transfusion* 1: 26-35, 2015.
6. Santoro Beer K, Silverstein C. Controversies in the use of fresh frozen plasma in critically ill small animal patients. *Veterinary Emergency and Critical Care* 25 (1):101-106, 2015.
7. Prittie JE. Controversies related to red blood cell transfusion in critically ill patients. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 20(2):167-176, 2010.
8. Abrams-Ogg ACG, Schneider A. Principles of canine and feline blood collection, processing and storage. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), 2012, pp 731-737.
9. Callan MB. Red blood cell transfusion in the dog and cat. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), pp 738-743, 2012.

10. Klein HG, Spahn DR, Carson JL. Red blood cell transfusion in clinical practice. *Lancet* 370: 415-426, 2007.
11. Hare GMT, Tsui AKY, Ozawa S, et al. Anaemia: Can we define haemoglobin thresholds for impaired oxygen homeostasis and suggest new strategies for treatment? *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology* 27: 85-98, 2013.
12. Hayden SJ, Albert TJ, Watkins TR, et al. Anemia in critical illness: insights into etiology, consequences, and management. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 185, (10):1049-1057, 2012.
13. Tvedten H. Laboratory and clinical diagnosis of anemia. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), pp 152-161, 2012.
14. Lacroix J, Hebert PC, Hutchison JS, et al. Transfusion Strategies for Patients in Pediatric Intensive Care Units. *The new England journal of medicine* 356 (16):1609-1619, 2007.
15. Marik PE, Corwin HL. Efficacy of red blood cell transfusion in the critically ill: a systematic review of the literature. *Critical Care Medicine* 36: 2667-2674, 2008.
16. Liunbruno GM, Bennardello F, Lattanzio A, et al. Recommendations for the transfusion management of patients in the peri-operative period. *Blood Transfusion* 9:189-217, 2011.
17. Thorson CM, Van Haren RM, Ryan ML, et. Admission hematocrit and transfusion requirements after trauma. *Journal of the American College of Surgeons*, 216(1):65-73, 2013.
18. Prakash D. Anemia in the ICU: Anemia of Chronic Disease Versus Anemia of Acute Illness. *Critical Care Clinics*, 28 (3):333-343, 2012.
19. Holst LB, Petersen MW, Haase N, et al. Restrictive versus liberal transfusion strategy for red blood cell transfusion: systematic review of randomised trials with meta-analysis and trial sequential analysis. *British Medical Journal* 350:h1354, 2015. <http://www.bmj.com/content/bmj/350/bmj.h1354.full.pdf>
20. Holst LB, Haase N, Wetterslev J, et al. Lower versus higher hemoglobin threshold for transfusion in septic shock. *The New England Journal of Medicine*; 371:1381-91, 2014.
21. Holst LB, Carson JL, Perner A. Should red blood cell transfusion be individualized? No. *Intensive Care Medicine* (41) 11:1977-1979, 2015.
22. Kuriyan M, Carson JL. Anemia and clinical outcomes. *Anesthesiology Clinics of North America* 23: 315-25, 2005.
23. Dunne J, Malone D, Tracy JK, et al. Perioperative anemia: an independent risk factor for infection, mortality and resource utilization in surgery. *Journal of Surgery Research* 102: 237-44, 2002.
24. Carson JL, Terrin ML, Jay M. Anemia and postoperative rehabilitation. *Canadian Journal of Anaesthesia* 50 (6):60-64, 2003.
25. Rivers E, Nguyen B, Havstad S, et al. Early goal-directed therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *New England Journal of Medicine*, 345:1368-77, 2001.
26. Meybohm P, Shander A, Zacharowski K. Should we restrict erythrocyte transfusion in early goal directed protocols? *BioMed Central Anesthesiology*, 2015.
27. Hann L, Brown DC, King LG, et al. Effect of duration of packed red blood cell storage on morbidity and mortality in dogs after transfusion: 3,095 cases (2001-2010). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28:1830-1837, 2014.
28. Donadee C, Raat N.J, Kaniyas T, et al. Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion. *Circulation*, 124: 465-476, 2011.
29. Hod EA., Zhang N, Sokol SA, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that are mediated by iron and inflammation. *Blood* 115:4284-4292, 2010.
30. Liona N, Crettaza D, Rubina O, et al. Stored red blood cells: a changing universe waiting for its map(s). *Journal of Proteomics* 73:374-385, 2010.
31. L'Acqua C, Hod EA. New perspectives on the thrombotic complications of haemolysis. *British Journal of Haematology* 168:175-185, 2015.
32. Brooks MB. Transfusion of plasma products. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), 2012 pp 744-750.
33. Odunayo A, Kerl ME. Comparison of whole blood and plasma colloid osmotic pressure in healthy dogs. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 21(3):236-241, 2011.
34. Stokol T, Parry BW. Efficacy of fresh frozen plasma and cryoprecipitate in dogs with von Willebrand's disease and hemophilia A. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 12:84-92, 1998.
35. Abrams-Ogg ACG. Platelet and granulocyte Transfusion. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), pp 751-756, 2012.
36. George JN, Pickett EB, Heinz R. Platelet membrane microparticles in blood bank fresh frozen plasma and cryoprecipitate. *Blood* 68:307-309, 1986.
37. Hackner SG, Rousseau A. Bleeding disorders. In: Silverstein DC, Hopper K. Eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. Second edition. St Louis, Missouri: Elsevier, 2015, pp 554-566.
38. Svensson J, Bergqvist PBF, Vinter Juul K, et al. Desmopressin in treatment of haematological disorders and in prevention of surgical bleeding. *Blood Reviews* 28 (3):95-102, 2014.
39. Weeder PT, Porte RJ, Lisman T. Hemostasis in liver disease: implications of new concepts for perioperative management. *Transfusion Medicine Reviews* 28:107-113, 2014.
40. Curry NS, Davenport RA, Hunt BJ, et al. Transfusion strategies for traumatic coagulopathy. *Blood Reviews*, 26:223-232, 2012.
41. Holowaychuk MK, Hanel RM, Wood RD, et al. Prospective multicenter evaluation of coagulation abnormalities in dogs following severe acute trauma. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 24(1):93-104, 2014.
42. Caldwell SH, Hoffman M, Lisman T, et al. Coagulation disorders and hemostasis in liver disease: pathophysiology and critical assessment of current management. *Hepatology* 44:1039-1046, 2006.
43. Palmer L, Martin L. Traumatic coagulopathy -Part 1: Pathophysiology and diagnosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 24(1):63-74, 2014.
44. Palmer L, Martin L. Traumatic coagulopathy -Part 2: Resuscitative strategies. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 24(1):75-92, 2014.
45. Seth M, Jackson KV, Winzelberg S, et al. Comparison of gel column, card and cartridge techniques for dog erythrocyte antigen 1.1 blood typing. *American Journal of Veterinary Research* 73 (2): 213-219, 2012.
46. Giger U, Acierno MA, Polak K, et al. Updates on canine and feline blood typing and crossmatching. 15th Annual Congress of the European Society and College of Veterinary Clinical Pathology ESVCP/ECVCP Proceedings:108-113, 2013.
47. Acierno MM, Raj K, Giger U. DEA 1 Expression on Dog Erythrocytes Analyzed by Immunochromatographic and Flow Cytometric Techniques. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28:592-598, 2014.
48. Abrams-Ogg A. Practical Blood Transfusion. In: Day M. et al. Eds. *Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine*. BSAVA Publications, Gloucester, UK, 2000, pp 263-303.
49. McDevitt RI, Ruaux CJ, Baltzer WI. Influence of transfusion technique on survival of autologous red blood cells in the dog. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 21 (3):209-216, 2011.
50. McMichael M. Prevention and treatment of transfusion reactions. In: Silverstein DC, Hopper K. Eds. *Small Animal Critical Care Medicine*. Second edition. St Louis, Missouri: Elsevier, 2015, pp 333-337.
51. Weinstein NM. Transfusion Reactions. In: Schalm's veterinary hematology, 6th edition. Wiley Blackwell, Iowa (USA), 2012 pp 769-775.
52. Kerl ME, Hohenhaus AE. Packed red blood cell transfusion in dogs: 131 cases (1989). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202: 1495-1499, 1993.
53. Callan MB, Oakley DA, Shofar FS, et al. Canine red blood cell transfusion practice. *Journal of American Animal Hospital Association* 32: 303-308, 1996.
54. Tung JP, Fung YL, Nataatmadja M, et al. A novel in vivo ovine model of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Vox Sanguinis* 100: 219-30, 2011.
55. Tung JP, Fraser JF, Nataatmadja M et al. Age of blood and recipient factors determine the severity of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Critical Care* 16.R19: 1-14, 2012.
56. Middelburg RA, van der Bor JG. Transfusion-related acute lung injury not a two-hit, but a multicausal model. *Transfusion* 55 (5): 953-960, 2015.