

Immunmedierad hemolytisk anemi hos hund

en retrospektiv studie

Mirja Voudinmäki

Handledare: Astrid Hoppe
Inst. för kliniska vetenskaper, avdelningen för smådjur

Biträdande handledare: Helene Hamlin
Inst. för kliniska vetenskaper, avdelningen för smådjur

ABSTRACT

Immune-mediated haemolytic anaemia (IMHA) is an immune-mediated destruction of erythrocytes and is one of the most common haematological diseases diagnosed in dogs. The haemolysis is a type II immunoreaction and is initiated by IgG or IgM antibodies or complements.

This retrospective study includes 63 dogs suffering from primary IMHA. The study was based on information from records from the Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Small Animal Clinical Sciences in Uppsala and from the Animal Hospital in Strömsholm. The aim of the study was to evaluate the progress of the disease, treatment and the prognostic factors in different breeds, gender and age.

Following criteria were used for the dogs to be allowed in the study: the dogs were diagnosed with anaemia, the anaemia was regenerative and autoagglutination and/or spherocytes were seen in the blood.

About 50 % of the dogs in the study were diagnosed with IMHA within 2-6 years of age. Wire-haired dachshund was remarkably one of the most common breeds in this study together with Cocker and Springer spaniel. In the literature the most well-defined breeds are Cocker spaniel and Springer spaniel. Paleness and tiredness were the main symptoms and cortisone or cortisone and azathioprin in combination were the two most used treatments. All the dogs were diagnosed to have severe to mild anaemia. Twenty five percent of the dogs with severe anaemia died within 6 days.

Forty-two percent of the dogs treated with cortisone and azathioprin and 36 % of the dogs treated with cortisone alone survived within 6 days. The dogs that had a severe anaemia and were given a blood transfusion had a decreased survival rate compared to the dogs that weren't given any blood. This showed that blood transfusions could be negative in the treatment of IMHA. Mortality in the study was 56 %.

In conclusion the study showed that a number of negative factors could influence on the survival in dogs with IMHA. Negative factors were severe anaemia, thrombocytopenia, autoagglutination, blood transfusions or if the dog didn't show any recovery in 6 days. To be able to treat these dogs more successfully in the future further studies are needed.

SAMMANFATTNING

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA) är en av de vanligaste hematologiska sjukdomarna hos hund och sker till följd av en immunmedierad destruktion av erythrocyter. Hemolysen är en typ II immunreaktion och initieras av IgG eller IgM immunoglobulinerna (antikropparna) och/eller komplement.

I denna retrospektiva studie presenteras 63 stycken hundar med primär IMHA. Studien har baserats på journaluppgifter från Universitetsdjursjukhuset i Uppsala och Regiondjursjukhuset i Strömsholm. Syftet med projektet var att göra en utvärdering av sjukdomsutveckling, behandling och prognos av IMHA i olika ras-, kön- och åldersgrupper. Det kan i sin tur ge oss ökad förståelse för sjukdomen och hur de olika behandlingarna påverkar hunden positivt och negativt.

Inklusionskriterierna för att ingå i studien var följande: hundar med en diagnostiserad anemi, att anemin karakteriseras som regenerativ samt förekomst av autoagglutination och/eller sfärocyter i blodet.

Cirka 50 % av hundarna i studien insjuknade vid 2-6 års ålder. Utmärkande beträffande raser var att strävhaarig tax var så frekvent förekommande tillsammans med cocker och springer spaniel, jämfört med litteraturen där Cocker spaniel och Springer spaniel är de vanligast förekommande raserna. Bleka slemhinnor samt trötthet var de två vanligast förekommande symtomen och kortison eller kortison i kombination med azathioprin var de två mest använda behandlingarna. Samtliga hundar delades in utifrån diagnosen grav till lindrig anemi. Av hundarna med grav anemi överlevde 25 % inom en 6 dagars period. De hundar som behandlades med kortison och azathioprin fick en överlevnad på 42 %, medan överlevnaden hos de hundar som fick enbart kortison var 36 %. Av de hundar med grav och kraftig anemi som fick blodtransfusion överlevde färre hundar, jämfört med de hundar som inte fick blodtransfusion. Totala mortaliteten under hela studien var 56 %.

Sammanfattningsvis är de viktigaste negativa faktorerna grav anemi, trombocytopeni, autoagglutination, blodtransfusioner och om hunden inte svarat på behandlingen inom 6 dagar. Vidare studier krävs dock för att bland annat kunna utvärdera optimal behandling av hundar med IMHA.

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

ABSTRACT	3
SAMMANFATTNING	5
FÖRKORTNINGSLISTA	9
INLEDNING	11
SYFTE	11
LITTERATURÖVERSIKT	13
IMMUNMEDIERAD HEMOLYTISK ANEMI (IMHA)	13
ALLMÄNT / PATOGENES	13
KLASSIFICERING	14
KLINISKA SYMTOM	15
DIAGNOS	16
BEHANDLING	17
KOMPLIKATIONER SOM KAN FÖREKOMMA VID BEHANDLING AV IMHA	19
PROGNOS	21
MATERIAL OCH METODER	22
PATIENTER	22
UTREDNINGSGÅNG	22
ANALYSMETODER	23
RESULTAT	24
ÖVERLEVNAD	30
DISKUSSION	32
TACK	36
LITTERATURFÖRTECKNING	37

FÖRKORTNINGSLISTA

- AIHA – Autoimmun hemolytisk anemi
- ALAT - Alanine aminotransferase
- ALP - Alkaline phosphatase
- ANA – Antinukleära antikroppar (Antinuclear antibodies)
- C3 - Komplement C3
- DIC - Disseminated Intravascular Coagulation
- EVF - Erythrocyt volymfraktion, hematokrit
- EPK – Totalantal röda blodkroppar
- Hb - Hemoglobin
- IgG – Immunoglobulin G
- IgM - Immunoglobulin M
- IMHA - Immunmedierad hemolytisk anemi
- MCH – Mean corpuscular hemoglobin
- MCHC – Mean corpuscular hemoglobin concentration
- MCV – Mean corpuscular volume
- PRCA – Pure Red Cell Aplasia
- PCV – Packed cell volume
- SLE – Systemisk lupus erythematosus

INLEDNING

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA) är en av de vanligaste hematologiska sjukdomarna hos hund. Jag har under min tid på kliniken kommit att allt mer intressera mig för sjukdomen. Då hundarna ofta kommer in till kliniken med akuta symtom är det i akutskedet viktigt med en snabb diagnos och insättande av behandling samt bedömning av de vanligaste komplikationerna. Fortfarande är mycket av patogenesen oklar, vilket kan leda till en suboptimal behandling. Val av behandling beror ofta på hur akut sjuk hunden är och på hur individen svarar på behandlingen.

Detta arbete avser bland annat att utvärdera sjukdomsutveckling och behandlingar avseende IMHA. Genom journaluppgifter från Universitetsdjursjukhuset i Uppsala och Regiondjursjukhuset i Strömsholm har bland annat frekvens, ras, recidivrisk, behandlingseffekter och överlevnad studerats. Förhoppningen är att sammanställningen ska utmynna i information om såväl förekomsten av IMHA som dess behandlingar vid två av Sveriges största djursjukhus.

I denna studie presenteras 63 stycken hundar med primär IMHA. Inledningsvis presenteras fakta om själva sjukdomen, behandlingsalternativ och komplikationer mm. Därefter följer en sammanställning av de olika resultaten baserat på journalerna.

SYFTE

Syftet med projektet är att göra en utvärdering av sjukdomsutveckling, behandling och prognos av IMHA i olika ras-, kön- och åldersgrupper. Det kan i sin tur ge oss ökad förståelse för sjukdomen och hur de olika behandlingarna påverkar hunden positivt och negativt.

LITTERATURÖVERSIKT

Immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA)

Allmänt / Patogenes

Anemi på grund av immunmedierad destruktion av erythrocyter är en av de vanligaste diagnostiserade autoimmuna sjukdomarna hos hund. Med autoimmun sjukdom menas att immunförsvaret reagerar fel och bildning av så kallade autoantikroppar kan ske. Då autoantikroppar binder till en strukturell komponent på erythrocyten och man inte kan påvisa någon underliggande orsak, kallas det vanligen för autoimmun hemolytisk anemi (AIHA) (Day 1999b). Det vanligaste numera är att använda begreppet immunmedierad hemolytisk anemi (IMHA) för sjukdomen. En hemolys sker på grund av en patologiskt ökad destruktion av röda blodkroppar (Day 1999b; Scott-Moncrieff 2001). Hemolysen är en typ II immunreaktion och initieras av immunoglobuliner (antikroppar) och/eller komplement (Reimer *et al* 1999).

Vid IMHA varierar destruktionsstället för röda blodkroppar delvis beroende på vilken typ av antikroppar (immunoglobulin G, (IgG) eller immunoglobulin M, (IgM)) som binder på cellmembranet. Immunoglobuliner kan binda även till makrofager och neutrofila granulocyter. Följden blir fagocytos eller hemolys av erythrocytmembran efter utsöndring av lysosomala produkter från neutrofila granulocyter. Detta sker oftast i mjälten (IgG) och i levern (IgM) och är den vanligaste typen av hemolys hos hundar med IMHA (extravaskulär hemolys). Ibland fagocyterar makrofagerna inte hela erythrocytmembranet, utan ”biter av” en del av det. Då bildas små runda celler som kallas sfärocyter. Dessa blir dels fångade i små kapillärer i mjälten, men finns ofta även i perifert blod. Sfärocytos upptäcks med hjälp av blodutstryk och används i diagnostiken av IMHA. När IgM eller höga doser av IgG binder på ytan av erythrocyterna, sker hemolysen ofta via komplement intravaskulärt (intravaskulär hemolys), och sjukdomen visar sig i en allvarligare form. Detta är mer sällsynt än extravaskulär hemolys (Diehl 1996; Lifton 1999). Vid intravaskulär hemolys blir det oftast ett snabbare förlopp av sjukdomen.

Immunmedierad hemolytisk anemi förekommer ofta som en separat sjukdom. Den kan dock även förekomma samtidigt med immunmedierad trombocytopeni (immunologisk destruktion av blodplättar) och kallas då för Evans syndrom (Day 1999a; Feldman *et al* 1995). Båda kan också vara en del av en systemisk autoimmun sjukdom, systemisk lupus erythematosus (SLE) (Day 1999a; Chandler *et al* 1991). Antikropparna kan binda till erythrocyternas cellmembran av olika anledningar. Bindning kan ske till antingen endogena antigen (primär IMHA) eller exogena antigen (sekundär IMHA) på erythrocyternas cellmembran (Reimer *et al* 1999).

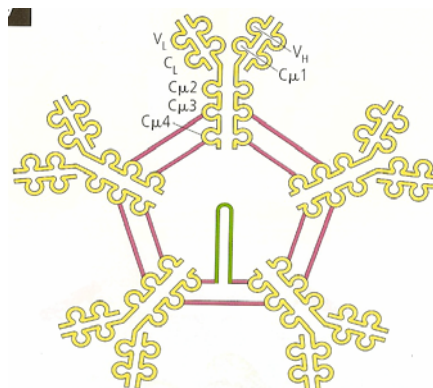
De flesta fallen av IMHA är primära. Sekundär IMHA har setts hos hundar med till exempel kroniska infektioner (bland annat fästingburna sjukdomar (Gough 2002)) eller neoplasier (lymfom, hemangiosarkom) (Day 1999b). Läkemedel (till exempel penicilliner, sulfonamider och NSAID), virus och levande vacciner kan eventuellt också medverka till sekundär IMHA (Day 1999b; Gough 2002; Tizard 1999).

IMHA har beskrivits drabba hundar framför allt i åldern 4-5 år eller yngre (Gough 2002). Tikar har i flera studier visats vara överrepresenterade. En del rapporter visar att det kan finnas ett samband mellan IMHA och hormonella förändringar som uppkommer vid östrus, dräktighet och/eller pyometra (Day 1999b; Tizard 1999). Vissa raser anses vara predisponerade för att få sjukdomen och den anses därför kunna ha en viss genetisk bakgrund. Framförallt cocker spaniel och engelsk springer spaniel är överrepresenterade enligt olika rapporter (Chandler *et al* 1991). Enligt Gough (2002) så är även pudel, Old English Sheepdog, irländsk setter och collie predisponerade för sjukdomen. I en studie gjord av Miller *et al* (2004) rapporterades en ökad förekomst av sjukdomen även hos bichon frise, miniatyr pinscher samt finsk spets. IMHA kan dock drabba alla raser, åldrar och kön (Gough 2002). Golden retriever är en ras som enligt (Reimer *et al* 1999) inte så ofta drabbas av sjukdomen.

Symtombilden beror bland annat på hur snabbt sjukdomen utvecklas och mekanismen för de röda blodkropparnas destruktion. Sjukdomen är även beskriven hos människor och hos nöt, häst, möss, kaniner och tvättbjörn (Tizard 1999).

Klassificering

IMHA hos hund kan klassificeras utifrån vilken typ av antikroppar som är involverade, den optimala temperaturen vid vilken autoantikropparna reagerar och hur den hemolytiska processen beter sig. Den vanligaste typen av IMHA medför autoantikroppar som reagerar med röda blodkroppar vid kroppstemperatur. Både IgG och IgM kan vara involverade. Ibland sker så kallad autoagglutination spontant i blodet. Placerar man en droppe blod på ett objektsglas så kan man ofta se autoagglutinationen med blotta ögat, dock krävs mikroskopisk undersökning för att säkerställa detta. Risken är störst för autoagglutination då IgM är involverade.



IgM molekyl (Day, M.J. 1999)

IgM antikroppar kan aktivera komplement och förstöra röda blodkroppar via intravaskulär hemolys. Det resulterar i hemoglobinemi, hemoglobinuri, ikterus och grav anemi. Affekterade hundar är anemiska, svaga och man kan eventuellt se tecken på ikterus samt hemoglobin i urinen. Dessa djur drabbas ofta av hepatomegali och lymfadenopati, på grund av att Kupffer-celler i levern och i

lymfknotorna förflyttar röda blodkroppar som har komplement på sin yta. De flesta fall av IMHA hos hund är medierade av IgG1 och IgG4 antikroppar. De aktiverar inte komplement. IgG antikroppar kan bara bilda korta länkar (15-25 nm) mellan blodkropparna och kan därför vanligen inte orsaka någon autoagglutination. IgM antikroppar däremot kan bilda längre länkar (30-50 nm) och kan på grund av det medföra autoagglutination. Vissa IgM antikroppar kan inte agglutinera röda blodkroppar vid kroppstemperatur, utan bara när blodet är nedkyllt. Dessa antikroppar kallas för "köldagglutinin". Man hittar dessa antikroppar när blodet kyls till mellan 10°C och 4°C. När blodet cirkulerar genom extremiteterna (svans, tår, öron med mera) hos affekterade djur kan det vara tillräckligt för att en hemagglutination i kapillärerna kan ske. Det här kan leda till vaskulär stas, blockering, ischemi i vävnaden och till slut nekros. Anemin i den här gruppen är inte lika vanlig utan man ser oftast nekros på extremiteterna. Den här formen av anemi är vanligast på vinterhalvåret (Tizard 1999).

Kliniska symtom

Den kliniska presentationen av IMHA kan vara akut, subakut eller kronisk. Kliniska symtom som bleka slemhinnor, svaghet, slöhet, minskad rörelseförmåga, tachypne, tachycardi och anorexi tyder på att hundarna har anemi. Den allmänna inflammationsprocessen samt destruktionen av röda blodkroppar kan ge upphov till såväl undulerande feber, lymfadenopati som hepatosplenomegali (Day 1999b; Gough 2002). Hundar med en kronisk form av IMHA kan ha tillfälliga episoder av ikterus associerade med utbrott av subakut eller akut extravaskulär hemolys. Leverenzymerna ALAT (alanine aminotransferase) och ALP (alkaline phosphatase) är ofta förhöjda hos hundar med grav, akut hemolytisk anemi. Detta kan vara ett resultat av skada i levern orsakad av hypoxi på grund av anemin (Burgess *et al* 2000; Day 1999b). Hundar med akut, grav anemi är ofta mycket svaga. Den akuta eller subakuta destruktionen av röda blodkroppar (speciellt den intravaskulära formen) är mycket mer vanlig än den kroniska formen av hemolytisk anemi. Vissa hundar kan utveckla DIC (Disseminated intravascular coagulation) eller tromboembolism (Day 1999a).

Patienter med akut eller subakut intravaskulär hemolys har en snabb process (en eller två dagar) med grav anemi och ikterus, ofta associerad med kräkning och feber (Day 1999b). Diarré kan också förekomma hos vissa hundar (Hansson 1994). Hundar med intravaskulär hemolys kan också ha hemoglobinemi och hemoglobinuri. Patienter med intravaskulär hemolys tror man ofta har IgM medierad hemolys och därför ser man en kraftigare hemolys och ofta autoagglutination (Day 1999a). Andra symtom som ses är bilirubinuri, blåsljud på hjärtat och petekier på grund av trombocytopeni eller sekundär koagulationsrubbnings (Lifton 1999).

Diagnos

Diagnosen av IMHA bör bedömas med hänsyn taget till kliniska symtom, hematologiska data och immunologiska tester. Vid kliniska symtom på IMHA bör man utesluta underliggande orsaker till sjukdomen. Den primära diagnostiska testen bör vara en fullständig hematologisk undersökning. Den bör innehålla följande:

- Gradering av anemin via mätning av erytrocytmassan med Hb (hemoglobin) och EVF (hematokriten).
- Anemi som graderas från mild (PCV < 0,35 l/l (35 %) till grav (PCV < 0,1 l/l (10 %).
- Manuell bedömning av utseendet på erytrocyterna inklusive anisocytos, polychromasi och retikulocytos, med eller utan kärnförande erytrocyter. Retikulocyter bör analyseras för bedömning av regenerationen. Har man ingen regeneration kan det vara en preregenerativ form av IMHA där benmärgen inte hunnit svara (mindre än 3-5 dagar). Den morfologiska klassificeringen baseras på förändringar i storlek (MCV) och hemoglobinkoncentration (MCH/MCHC).
- Förekomst av sfärocyter som indikerar en immunmedierad skada på cirkulerande röda blodkroppar.
- Förekomst av autoagglutination som man kan se i blodprovsröret och på ett blodutstryk i mikroskop. Ibland måste blodet kylas innan autoagglutination sker. Bästa identifikationen är ett agglutinationstest på objektglas.
- Bedömning av leukocyter, där ofta leukocytos och speciellt neutrofil ses.
- Antalet trombocyter (Day 1999b).

De immunologiska tester som rekommenderas är Coombs' test och/eller ANA-test. Vid Coombs' test påvisas antikroppar eller komplement på erytrocytens cellyta (Day 1999b). Det anses dock inte vara ett särskilt känsligt eller specifikt test då både falska positiva och falska negativa resultat förekommer (Scott-Moncrieff 1996). Positivt testresultat kan enligt Richards (1999) orsakas av infektiösa sjukdomar till exempel anaplasma eller demodikos. Utfallet av Coombs' test kan vara svårt att bedöma. Ett positivt test anses dock bekräfta IMHA. Hos hundar med Pure Red Cell Aplasia (PRCA) kan Coombs' test ge positivt utslag hos ca 30 % (Day 1999b). Antinukleära antikroppar (ANA) kan också analyseras. Ett positivt svar talar oftast för systemisk autoimmun sjukdom, som i vissa fall initialt endast ger symtom på immunmedierad hemolys (Day 1999b). Andra diagnostiska tester som kan vara användbara är urinanalys, röntgen och ultraljud av buk och bröst, benmärgsprov och aspirat eller biopsi från en lymfknuta (Gough 2002).

Behandling

Syftet med behandlingen av IMHA är att hämma immunförsvaret och därmed destruktionen av de röda blodkropparna. Den ideala behandlingen ska lämna det normala immunförsvaret intakt och hämma det onormala, vilket i dagsläget är svårt att uppnå. Man strävar så långt det går efter immunosuppressiva behandlingar med minimala bieffekter samt kontroll av sekundära infektioner. Behandlingsresultatet mäts med hjälp av förhöjning av hematokrit/Hb samt minskning av hemolys, sfärocytos och agglutination och en förbättring av den kliniska bilden (Reimer *et al* 1999). Flera olika behandlingsalternativ finns:

- Vanligen rekommenderas immunosuppressiva doser av kortison som primär behandling. Prednisolondoser med 2-4 mg/kg ges initialt var 24 timme. Under perioden veckor till månader sänks dosen successivt till varannan dags behandling med ca 0,5 – 1 mg/kg. Uppföljande provtagningar ligger till grund för hur snabbt nedtrappning kan ske. En tänkbar effekt av kortison är blockering av bindningen mellan fagocyterande cellers Fc receptor med erytrocytbundna Ig. Kortisonet minskar även bindningen av Ig och komplement till röda blodkroppar (detta kan ske inom några timmar). Man tror också att antikroppsproduktion blir fördröjd via hämning av T cells funktionen. Hos hundar med kronisk IMHA rekommenderas ofta att kortison ges i minst fyra veckor innan man kompletterar med annan behandling (Day 1999b). Gastrointestinal irritation och utveckling av Cushings sjukdom är bland de vanligaste biverkningarna av kortison (Diehl 1996).
- Hos hundar med grav anemi där tillräcklig effekt av kortison inte uppnåtts, rekommenderas insättning av immunomodulerande läkemedel. Framför allt rekommenderas detta till hundar med hemoglobinemi, hemoglobinuri, autoagglutination och ikterus. De preparat som huvudsakligen används är antingen azatioprin eller cyklofosfamid, ofta i kombination med kortison. Azatioprin ges med en dos på ca 2 mg/kg po var 24 timme initialt och sänks sedan till 1-2 mg/kg varannan dag. Cyklofosfamid ges 50 mg/m² de första fyra dagarna i varje vecka i 4-5 månader (Day 1999b; Mason *et al* 2003). Använder man något av dessa två preparat kan dosen av kortison efter ett tag vanligen sänkas. Eftersom det tar ett par veckor innan man uppnått maximal effekt är det bra att dessa läkemedel sätts in så snabbt som möjligt. Azatioprin väljs ofta före cyklofosfamid på grund av färre biverkningar. Cyklofosfamid anses vara mer myelosuppressivt och kan orsaka steril, hematuri. Rapporter om cyklofosfamid säger dock att det kan vara mer potent som immunosuppressivt läkemedel och kan ha snabbare effekt, vilket kan innebära en fördel för allvarligt sjuka hundar (Day 1999b). Azatioprin kan vara mer effektiv hos tidiga, extravaskulära IMHA patienter på grund av att den ”arbetar” mer på T cells nivå (Diehl 1996).
- Hundar som har en livshotande anemi bör få understödjande behandling, till exempel vätskebehandling eller blodtransfusion. Vätskan bör ges försiktigt på grund av risken för ”overload” då dessa patienter har normal blodvolym. Det är kontroversiellt med blodtransfusioner till patienter med IMHA, på grund av att extra tillskott av röda blodkroppar kan ge ökad hemolys i blodet. Hos patienter med allvarliga symtom kan dock blodtransfusion hjälpa till innan läkemedlen hunnit ge resultat (kan ta 3-7 dagar). Vid möjlighet att separera blodet, är det ofta en fördel att enbart ge röda blodkroppar och inte helblod.

Blodtypning bör göras men kan vara svårtolkat, framför allt vid autoagglutination som ger utslag på alla typningar. Det kan bli aktuellt att ge flera blodtransfusioner på kort tid hos hundar med mycket akut IMHA (Day 1999b). Om blodtypning är svårt att göra på g rund av autoagglutination så kan man använda hundens erythrocytantigen (DEA) 1.1- och 1.2-negativt blod (Lifton 2002).

- Danazol är ett modifierat androgen. Det hämmar komplementaktivering och komplementbindning på cellytorna samt minskar mängden immunoglobuliner på ytan av erythrocyterna och i cirkulationen. Uppgifter om dos varierar från ca 3-12 mg/kg po var 12:e timme (Day 1999b; Grundy 2001). Effekten av Danazol är långsam (kan ta upp till flera månader), men dosen av kortison brukar kunna minskas efter en tid. De flesta hundar tål Danazol bra, men preparatet är dyrt och används (vanligen) till hundar där de andra preparaten inte fungerar eller där biverkningarna blivit för kraftiga (Day 1999b).
- Cyklosporin har använts för behandling av svårhanterlig IMHA. Dosen är 15 mg/kg po var 24 timme (Day 1999b). Cyklosporin hämmar förstärkningen av immunreaktionen genom att blockera produktion av T-hjälpar cellerna. Läkemedelsabsorptionen efter oralt upptag är osäkert och medicinen är dyr (Grundy 2001).
- Plasmapheres och behandling med hög dos av humant gammaglobulin har också använts. Plasmapheres är en metod där man tappar en patient på blod som man blandar med antikoagulantia innan det centrifugeras. Plasman separeras från cellerna. Plasman behandlas sedan så att autoantikropparna och immunkomplexen separeras bort. Den ”nya” plasman återges tillsammans med celler till patienten. Tyvärr så separeras bara de cirkulerande autoantikropparna och inte de erythrocytbundna antikropparna. Denna metod är sällan tillgänglig. Humant gamma globulin ges intravenöst 0,5-1,5 g/kg under fyra timmar och är en enkel behandling. Man tror att detta fungerar genom att blockera Fc-receptorer på mononukleära fagocyterande celler (Day 1999b). Andra teorier säger att gammaglobulin minskar produktion och utsöndring av antikroppar från B-lymfocyterna eller ändrar funktionen hos andra celler som deltar i det immunologiska försvaret (Scott-Moncrieff *et al* 1997). Hundarna verkar tolerera humant immunoglobulin bra och inga anafylaktiska reaktioner har rapporterats (Day 1999b). Dock finns få vetenskapliga undersökningar utförda och liten erfarenhet inom området. Gammaglobulininterapi är mycket dyr och därför blir användningen ofta begränsad (Day 1999b; Scott-Moncrieff *et al* 1997).
- Splenektomi har uppgetts kunna förbättra prognosen hos IMHA patienter. Behandlingen är dock kontroversiell. Man opererar bort mjälten som är huvudplatsen för erythrocytdestruktion och antikroppsproduktion. Det finns inte många studier som visar att det är en användbar metod men i individuella fall har man sett förbättringar. Splenektomi är ofta den sista behandlingen hos hundar med grav anemi och där man inte fått bra resultat på tidigare behandlingar (Day 1999b). Vissa författare menar att splenektomi kan vara ett bra behandlingsalternativ hos hundar med IgG-medierad hemolys och splenomegali på grund av att mjälten i dessa fall spelar stor roll i erythrocytdestruktionen (Matus *et al* 1985; Jain 1986). Även levern kan dock ha liknande funktioner speciellt vid höga IgG-titrar i blodet. Detta kan

misstänkas hos patienter där det inte sker någon förbättring efter operationen (Matus *et al* 1985).

- Bovin hemoglobinlösning är en av de senare behandlingarna som provats på hund. Det är en lösning som innehåller polymeriserat hemoglobin av bovint ursprung och blandas med Ringer laktat. Det här skulle kunna vara en alternativ lösning till blodtransfusioner. Behandlingen är dock inte undersökt säkerhetsmässigt beträffande samband med DIC, trombocytopeni och autoagglutination (Grundy 2001).

Komplikationer som kan förekomma vid behandling av IMHA

Disseminerad intravaskulär koagulation (DIC) och pulmonär tromboembolism är de två vanligaste komplikationerna som ses vid IMHA. Andra förekommande komplikationer är trombocytopeni, gastrointestinala blödningar, svåra infektioner, leverskador och akut njursvikt.

DIC:

Hundar som drabbats av IMHA löper större risk att utveckla DIC på grund av den inflammation som ses vid hemolysen (speciellt intravaskulär hemolys). Då aktiveras koagulationskaskaden vilket kan leda till ansamling av fibrinkoagel på väggen hos små kärl samt brist på koagulationsfaktorer i blodet sekundärt till aktivering av fibrinolytiska mekanismer. DIC kan upptäckas tidigt vid kontroller av koagulationsparametrar i blodet och mängden av trombocyter. Behandlingen består av att tillsätta färsk, frusen plasma och återställa koagulationsfaktorer. Heparin som behandling är kontroversiellt vid DIC (Lifton 1999).

Pulmonära tromboembolier:

Pulmonära tromboembolier är enligt litteraturen den allra vanligaste komplikationen hos hundar med IMHA. Tromboembolier kan ses i flera organ men förekommer främst i lungorna. Etiologin bakom uppkomsten av tromboembolier är okänd. Man har dock sett att endotelskador orsakade av cirkulerande immunkomplex och erythrocytfragment kan få trombocyterna att fastna på kärlväggen. Sekundärt till hemolysen kan tromboplastiska substanser bli utsläppta och orsaka tillståndet (Lifton 1999). Behandlingen med glukokortikoider ändrar balansen mellan koagulation och antikoagulation och kan predisponera för pulmonära tromboembolier. Man har också funnit att negativt antiglobulintest, hyperbilirubinemi, hypoalbuminemi, trombocytopeni, höga ALP värden och användningen av intravenösa katetrar ökar risken för pulmonära tromboembolier hos hundar med IMHA (Lifton 1999, Jubb *et al* 1997). De vanligaste symtomen är akut, kraftig dyspne och tachypne. Enligt Miller 1996 ses även feber, anorexi och plötslig död. Djuret har respiratorisk acidosis med lågt pO₂ i arteriellt blod samt ökat centralt venttryck. Koagulationstester kan ha normala resultat. Diagnosen ställs med hjälp av symtom, blodprov och thoraxröntgen där kraftig interstitiell teckning samt vätska i pleurahålan ses. Diagnostiken är svår och i de flesta fall krävs det pulmonär arteriografi/scintigrafi för verifiering av diagnosen. Även den postmortala undersökningen är osäker, då tromberna löses upp spontant inom tre timmar efter döden (Miller 1996, Lifton 1999).

Behandlingen av pulmonär tromboembolism består av syrgastillförsel, antikoagulantia och understödjande behandling. Främst används heparin för att motverka bildningen av tromber och för att minska de tromber som redan finns. Heparindoserna har diskuterats. Enligt Lifton (1999) finns det en studie som visar att doser < 250 U/kg inte uppnådde terapeutiska serumkoncentrationer av heparin. Vanligen uppges att doser på minst 250U/kg subkutant var 6:e timme verkar fungera bra (Lifton 1999). Maximala effekten uppträder inom 2-4 timmar efter en subkutan injektion (FASS 2006). Ett alternativ kan vara att inkubera heparin i färsk, frusen plasma, varvid antitrombin III aktiveras (Lifton 1999). Enligt Cotter (1992) har det diskuterats om heparinbehandling är kontraindicerad hos patienter som har aktiva blödningar. Plasma eller helblod bör ges innan behandling med heparin vid tecken på DIC eller vid förlängda protrombin- och aktiverad tromboplastintider. Hos patienter med blödningar på grund av stor brist på koagulationsfaktorer är det här särskilt viktigt (Cotter 1992). Acetylsalicylsyra har trombocyttaggregationshämmande effekt, utöver den antipyretiska och analgetiska effekten, och används därför ibland vid behandling av tromboembolipatienter (Miller 1996, Fass 2006). Andra antikoagulantia som till exempel streptokinas har använts, men det finns inga bra studier angående deras effekt och säkerhet (Lifton 1999).

Trombocytopeni:

Hundar med IMHA kan ha lågt, normalt eller högt antal trombocyter. Trombocytopeni är relativt vanligt förekommande hos IMHA patienter. Enligt Klag *et al* 1993 hade 67 % av hundarna trombocytopeni vid ankomst till kliniken. Oftast är trombocytopenin lindrig men kan bli grav om till exempel DIC eller sepsis är inblandat (Miller 1996). Sjukdomen kallas för Evans syndrom när trombocytopeni förekommer i samband med IMHA. Läkemedlen cyklofosamid och azatioprin kan också orsaka trombocytopeni. Heparin används ibland profylaktiskt vid pulmonär tromboembolism hos IMHA sjuka hundar och har hos människa associerats med trombocytopeni (Miller 1996).

Gastro-intestinala blödningar:

En relativt vanlig komplikation hos IMHA patienter är läkemedelsinducerade blödningar i mag-tarmkanalen. Kortikosteroider spelar här roll genom att påverka omsättningshastigheten hos slemhinnecellerna samt slem- och syraproduktionen. Immunomodulerande läkemedel kan också orsaka blödningar i mag- tarmkanalen genom att irritera slemhinnan. DIC och trombocytopeni kan ge upphov till samma irritation i tarmen. IMHA patienter som står på immunosuppressiv behandling och som blir stressade kan få blödningar orsakade av bakterier (Miller 1996).

Sucralfat och cimetidin är exempel på två läkemedel som kan användas för att skydda magslemhinnan mot blödningar. De hindrar inte utveckling av ulcera men fungerar bra som behandling av redan bildade ulcera (Diehl 1996).

Svåra infektioner:

IMHA patienter som står på immunosuppressiv behandling kan drabbas av bakterie- och svampinfektioner. Enligt viss litteratur (Miller 1996) är det dock inte indicerat att behandla alla patienter profylaktiskt med antibiotika. Behandlingen bör påbörjas först när man ser tecken på infektion. Behandling med Trimetoprim-Sulfa kombinationer är inte att rekommendera. Svampinfektioner kan bli komplicerade och eventuellt fatala hos IMHA patienter (Miller 1996).

Leverskador:

Hos IMHA patienter ses ibland ikterus, bilirubinemi samt bilirubinuri. Det talar för att hunden har en hemolys och därmed ett ökat bilirubinutsläpp från erytrocyterna. Leverns förmåga att konjugera och utsöndra bilirubin har överskridits vid dessa tillstånd. Anemin är oftast grav vid hemolytiska tillstånd och då störs de hepatocellulära funktionerna i levern och leder till nedsatt bilirubinexkretion. Ischemiska leverskador är relativt vanliga hos patienter med kroniska hemolytiska tillstånd. Behandling med glukokortikoider kan också ge skador på levern (Jubb *et al* 1997).

Akut njursvikt:

Hundar med intravaskulär hemolytisk anemi drabbas ofta av njursvikt. Fritt hemoglobin är nefrotoxiskt och kan hos patienter som är dehydrerade orsaka grava njurskador (hemoglobinorsakad nefros). Det är viktigt att rehydrera dessa patienter samt se till att diuresen fungerar (Miller 1996).

Prognos

Resultatet av behandlingar på IMHA hundar är osäkert oavsett vilket behandlingsalternativ man väljer. Flera källor visar att 20-80 % av patienterna dör trots intensiv, snabbt insatt behandling (Klag *et al* 1993; Miller 1996; Reimer *et al* 1999). Vid första besöket på kliniken ligger mortaliteten på 29 % enligt Klag *et al* (1993). Prognosen på lång sikt är dålig med upp till 70 % mortalitet inom ett år från det initiala veterinärbesöket. Trots allt kan man efter de 3-6 första sjukdomsveckorna se en ökad överlevnadstid (Miller 1996; Petäjä 1999).

Prognosen var sämre hos hundar som hade tecken på grav anemi med mycket låga EVF-värden och/eller svagt regenerativ anemi med få retikulocyter. Det här enligt en rapport om 42 IMHA hundar som Klag *et al* (1993) fastställde. Efter jämförelse med två olika studier på 42 respektive 70 IMHA patienter var överlevnadstiden kortare för hundar som hade tecken på leverskada med höga bilirubinkoncentrationer i serum (Klag *et al* 1993; Reimer *et al* 1999), ikterus eller förhöjt ALP (alkaliskt fosfatas) i serum (Reimer *et al* 1999). Trombocytopeni verkar också ge en kortare överlevnadstid hos dessa patienter (Reimer *et al* 1999). Något som också visat sig påverka prognosen negativt är behandlingen med blodtransfusioner och användandet av intravenösa katetrar, eftersom det eventuellt skulle kunna leda till utveckling av tromboembolier (Miller 1996; Reimer *et al* 1999). Man tror att hundar med autoagglutination lider av en allvarligare form av IMHA och att mortaliteten hos dem är högre (Klag *et al* 1993). Enligt vissa studier verkar det som att hundar med den intravaskulära formen av IMHA har mycket dålig prognos (> 90 % dödlighet). Diehl (1996) skriver i en rapport att om man ser förbättring inom de första 48 timmarna efter besöket hos veterinären så är överlevnaden högre. Konvertering från intravaskulär hemolys till extravaskulär hemolys verkar vara vanlig hos dessa patienter. Diehl anser i sin rapport att det viktigaste med tanke på prognosen är att sätta in behandling tidigt och att fortsätta med aggressiv behandling i flera månader med successiv minskning av doserna (Diehl 1996; Petäjä 1999).

MATERIAL OCH METODER

Patienter

Mellan 1999-06-01 – 2004-06-14, diagnostiserades 63 hundar med IMHA. Journaluppgifterna från dessa hundar har sammanställts och utgör underlaget för denna studie. Journalerna har insamlats från såväl Universitetsdjursjukhuset i Uppsala (n=37) som Regiondjursjukhuset i Strömsholm (n=26). Informationen som använts innefattar besöksdatum och för varje datum: anamnes, symtom, laboratorieresultat, eventuellt röntgen- och ultraljudsresultat samt diagnos.

Urvalet av journaler har skett genom att söka i det allmänna diagnosregistret. För att inledningsvis inte missa några hundar med primär IMHA och för att få ett så brett utgångsmaterial som möjligt har studien initialt inkluderat diagnoserna anemi, hemolytisk anemi och immunmedierad hemolytisk anemi (eller autoimmun hemolytisk anemi). Utifrån dessa diagnoskoder har därefter materialet valts ut enligt inklusionskriterierna 1) diagnostiserad anemi med ledning av Hb (hemoglobin) eller Hkt (hematokrit), 2) regenerativ anemi (polykromasi 2+, anisocytos 2+ och/eller förhöjt antal retikulocyter) samt 3) förekomst av sfärocyter och/eller autoagglutination. Uppfyllande av alla 3 kriteriepunkterna gällde för att patienten skulle ingå i studien. Journaler där andra orsaker till anemin identifierats, till exempel tumörer eller andra sjukdomar, exkluderades från studien.

Utredningsgång

Vid ankomst till djursjukhuset utfördes en klinisk undersökning av alla patienterna. Alla hundar uppvisade något/flera typiska symtom såsom svaghet, trötthet, feber, nedsatt/upphörd aptit, bleka slemhinnor samt eventuellt illamående och/eller ikterus. Blodprover togs och analyserades så snart som möjligt (speciellt Hb, Hkt/EVF) efter ankomsten till kliniken. Oftast analyserades flera prover nästföljande dag på laboratoriet på den enskilda kliniken. Hemoglobinvärdet, MCV, MCH och MCHC bestämdes. Antalet vita blodkroppar, erythrocyter samt trombocyter räknades. Med ett blodutstryk bestämdes även erythrocytmorfologin där bland annat förekomst av autoagglutination och/eller sfärocytos noterades. I flera av fallen analyserades även lever- och njurvärden samt urinprov. *Borrelia burgdorferi* samt *Anaplasma phagocytophilum* analyserades avseende antikroppstitrar. ANA (antinukleära antikroppar) och Coombs' test var även analyser som utförts. Flera hundar fick också genomgå röntgen- och/eller ultraljudsundersökning varvid resultat endast avseende hepatomegali samt splenomegali undersöktes.

Analysmetoder

Analys utförda i Uppsala:

Vid analys av Hb, EVF, totalt antal leukocyter, erythrocyter och trombocyter samt differentialräkning användes Cell-Dyn 3500 (Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois (IL), USA). Utstryk från alla prov samt differentialräkning granskades manuellt. Manuell EVF och trombocyträkning har använts vid behov.

ALAT, ALP och kreatinin i serum har analyserats med Konelab 30 (Konelab Corporation, Espoo, Finland) enligt standardmetoder vid laboratoriet för klinisk kemi. Urinprov analyserades från 15 stycken hundar. Urin-stix (Combur-Test, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) användes för analys av bland annat glukos i urin. Urinprotein analyserades med sulfosalicylsyra. Urinsediment bedömdes i mikroskop. Analys av antikroppar för *Borrelia burgdorferi*/*Anaplasma phagocytophilum* utfördes med immunofluorescens teknik på en hund. En positiv titer ansågs vara $\geq 1:40$ (Artursson *et al* 1999; Egenvall *et al* 1998). Vid utförande av Coombs' test användes EDTA rör (ICN Biomedicals Inc. Ohio, USA). ANA (antinukleära antikroppar) analyserades med indirekt immunofluorescens teknik (Immuno Concepts, Sacramento, CA, USA) (Hansson *et al* 1996).

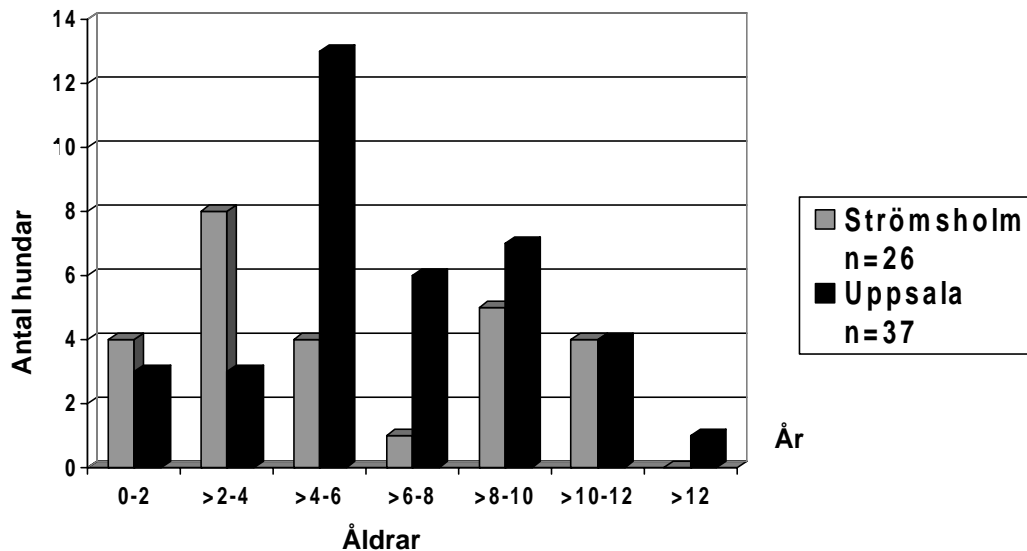
Analys utförda i Strömsholm:

Analys av Hb, hematokrit, totala antalet leukocyter, erythrocyter samt trombocyter utfördes 1999-2003 med Celltac MEK-6108 K från Nihon Kodhen och 2003-2004 användes Medonic CA 620 Vet från Boule Medical AB. Differentialräkning utfördes alltid manuellt genom att räkna 100 celler. För ALAT, ALP och kreatinin användes KODAK Ektachem DT60 analyser, (Eastman kodak company, rochester, New York, USA). Urinprover bedömdes manuellt med teststicka (Labstix, Bayer Diagnostics, Bridgend, UK), vilken påvisade bland annat glukos i urinen. Urinprotein bestämdes manuellt med Hellers ringprov (salpetersyra). Urinsediment bedömdes (efter centrifugering och borttagande av supernatant) manuellt med mikroskop. Analys avseende antikroppar mot *Borrelia burgdorferi*/*Anaplasma phagocytophilum* utfördes med immuno-flourescens teknik (ProtaTek, USA). Detta bedömdes sedan manuellt i flourescens-mikroskop. En positiv titer för *Borrelia* ansågs vara $\geq 1/80$ och för *Anaplasma* $\geq 1/40$. Coombs' och ANA skickas för analys till klinisk kemi i Uppsala.

RESULTAT

Totalt ingick 63 stycken hundar i studien. Könsfördelningen i materialet var 38 tikar och 25 hanar. Av tikarna var 5 stycken (13 %) kastrerade. Sjuttio procent av hundarna från Universitetsdjursjukhuset i Uppsala var tikar, medan hundarna från djursjukhuset i Strömsholm var jämnt fördelat mellan könen.

Åldersfördelningen redovisas i figur 1. Cirka femtio procent av hundarna insjuknade i IMHA mellan 2-6 års ålder. Resterande hundar hade en mer spridd åldersfördelning. Medelåldern för samtliga hundar var 6 år och 2 månader. Medianvärdet var 5 år och 6 månader. Den yngsta hunden i studien insjuknade vid 11 månaders ålder och den äldsta efter 12 års ålder.



Figur 1. Åldersfördelning för hundar med påvisad IMHA.

Rasfördelningen ses i tabell 1. Cocker spaniel och irländsk setter var två raser som förekom frekvent enligt journaluppgifter från Uppsala, medan dessa raser inte alls rapporterades från Strömsholm. Springer spaniel och tax var lika frekvent förekommande på båda ställena. I kolumnen "övriga raser" förekommer följande med 1-2 hundar/ras: drever, japansk spets, shihtzu, jämthund, dobermann, dalmatiner, dvärgschnauzer, jack russel, gordonsetter, shetland sheepdog, blandras, hamiltonstövare, labrador retriever, cavalier king charles spaniel, rhodesian ridgeback, storpudel, schäfer, welsh corgi cardigan, flatcoated retriever, newfoundland, lhasa apso, hovawart, liten munsterländer, keeshound och irländsk varghund.

Tabell 1. Fördelningen av raser för hundar med IMHA baserat på journaluppgifter från Strömsholm och Uppsala. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar av respektive ras och det totala antalet hundar från respektive djursjukhus

Raser	Strömsholm	Uppsala
Cocker spaniel	0 st	6 st (16 %)
Springer spaniel	4 st (15 %)	4 st (11 %)
Tax, strävårig	3 st (12 %)	3 st (8 %)
Irländsk setter	0 st	3 st (8 %)
Övriga raser*	19 st (73 %)	21 st (57 %)
Totalt	n=26	n=37

* ≤ 2 hundar i varje ras

De vanligaste förekommande symtomen har sammanställts i tabell 2. Information om symtomen kommer från anamnesen vid första undersökningstillfället. Den dominerande symtombilden var bleka slemhinnor och trötthet. Samtliga av hundarna från regiondjursjukhuset i Strömsholm hade bleka slemhinnor och 96 % visade trötthet, medan 86 % visade bleka slemhinnor och 81 % trötthet av hundarna från djursjukhuset i Uppsala. Feber var ett symptom som konstaterades hos totalt 38 % av hundarna. Gränsen för feber sattes till $> 39.5^{\circ}\text{C}$. Hos 6 stycken av hundarna fanns inga uppgifter om kroppstemperatur. Sextio procent av hundarna hade dålig aptit.

Tabell 2. Vanligt förekommande symptom hos hundar med IMHA baserat på journaluppgifter från Strömsholm och Uppsala. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar med viss symtombild och det totala antalet hundar från respektive grupp

Symtom	Antal Strömsholm n=26	Antal Uppsala n=37	Antal Totalt n=63
Bleka slemhinnor	26 st (100 %)	32 st (86 %)	58 st (92 %)
Trötthet	25 st (96 %)	30 st (81 %)	55 st (87 %)
Inappetens	16 st (62 %)	22 st (59 %)	38 st (60 %)
Vinglig	8 st (31 %)	7 st (19 %)	15 st (24 %)
Dyspné	7 st (27 %)	12 st (32 %)	19 st (30 %)
Feber $>39.5^{\circ}$	8 st (31 %)	16 st (43 %)	24 st (38 %)
GI-symtom*	5 st (19 %)	11 st (30 %)	16 st (25 %)
Rödfärgad urin	10 st (38 %)	8 st (22 %)	18 st (29 %)

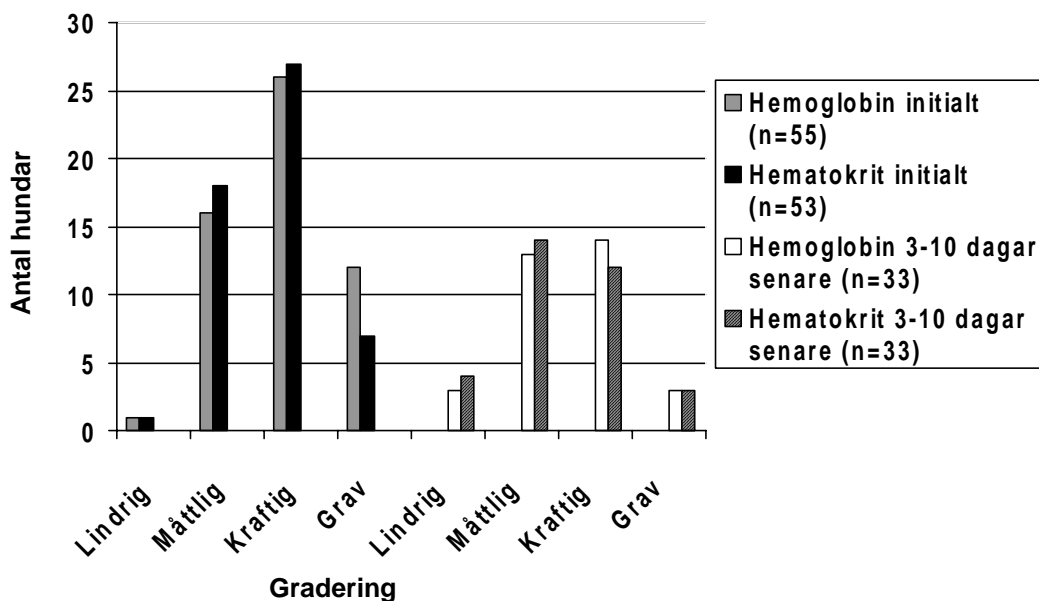
*Gastrointestinala symptom

Graden av anemi hos hundarna i studien har delats in i lindrig, måttlig, kraftig och grav, enligt kriterier fastställda vid klinisk kemi i Uppsala. I tabell 3 ses hur graderingen av anemin bedömts avseende hemoglobin och hematokrit, samt gällande referensvärden.

Tabell 3. Graderingen av hematokrit och hemoglobin vid anemi som används vid Avdelningen för bildiagnostik och klinisk kemi, Uppsala

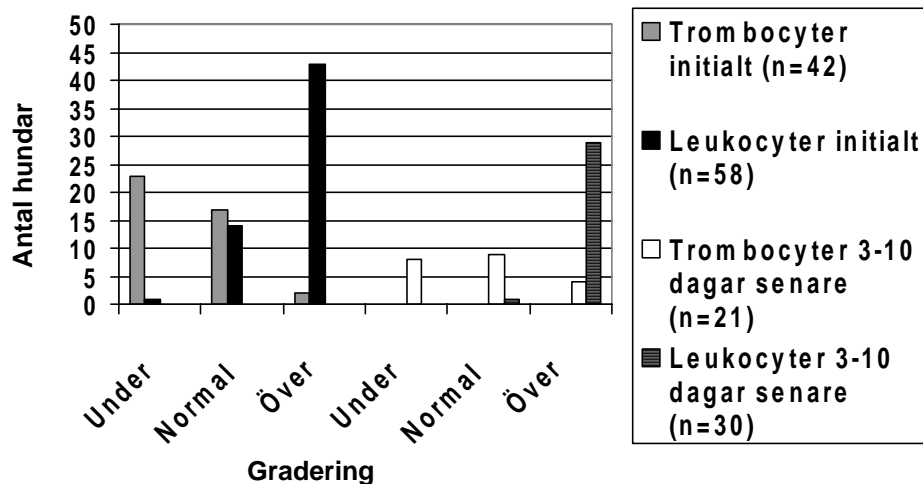
Hematokrit	Referens värden l/l	Hemoglobin	Referens värden g/L
Lindrig	0,30-0,37	Lindrig	100-125
Måttlig	0,20-0,29	Måttlig	70-99
Kraftig	0,13-0,19	Kraftig	45-69
Grav	< 0,13	Grav	< 45

Fördelningen av olika grader av anemi hos samtliga hundar visas i figur 2. Initialt hade 42 hundar låga hb värden och visade en måttlig till kraftig anemi, medan 12 hundar ansågs ha en grav anemi enligt hb värdet. Vid jämförelse initialt och 3-10 dagar senare, ses en viss förskjutning från kraftig anemi till måttlig och lindrig anemi. Värden för hemoglobin och hematokrit följer varandra relativt väl. Vid jämförelse av analysresultaten får man dock ha i åtanke att det skiljer i antal hundar mellan initialvärden och värden 3-10 dagar senare.



Figur 2. Graden av anemi, illustrerad genom hemoglobin- och hematokritvärden, initialt och 3-10 dagar efter diagnos av IMHA.

Figur 3 visar trombocyt- och leukocytvärdena. Trombocytvärdena var initialt normala eller låga. Leukocytvärdena däremot var oftast normala eller höga. Efter 3-10 dagar konstaterades att antal hundar med förhöjda leukocytvärden ökat jämfört med hundar med normala leukocytvärden. Ett observandum var dock att efter 3-10 dagar var trombocyt- och leukocytvärdena endast analyserade hos 21 respektive 30 hundar av totalt 63 stycken. Initialt upptäcktes trombocytopeni hos 23 hundar.

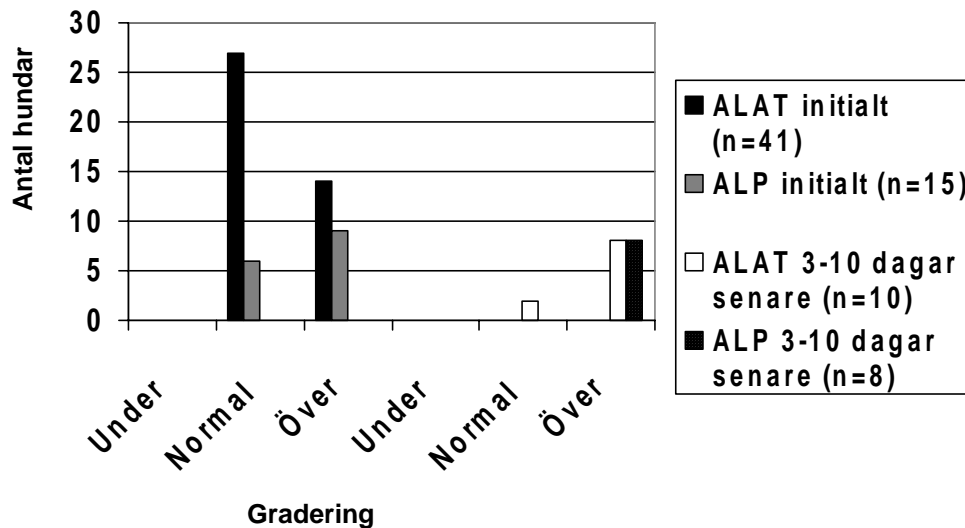


Figur 3. Trombocyt- och leukocytvärden, initialt och 3-10 dagar efter diagnos av IMHA.

Coombs' testet utfördes på 11 hundar varav 3 uppvisade positivt resultat. På 5 stycken av de hundar som uppvisade negativa resultat var testet analyserat trots att hundarna uppvisade tecken på autoagglutination. ANA-titrar analyserades hos 4 hundar och samtliga var negativa.

Autoagglutination och/eller förekomst av sfärocyter är bland de viktigaste kriterierna för IMHA. Totalt var det 39 stycken som hade autoagglutination, och hos 57 stycken påvisades sfärocyter. Hos 33 hundar påvisades både autoagglutination och sfärocyter. Hos nio stycken av totalt 12 hundar med grav anemi initialt påvisades autoagglutination i blodet.

I studien analyserades ALAT och ALP initialt på 56 respektive 26 hundar som visade normala till höga värden. Tre till tio dagar senare hade alla provtagna djur förhöjda värden av såväl ALAT som ALP, förutom 2 hundar som hade normala ALAT värden. Fördelningen av levervärdena ses i figur 4. Kreatinin analyserades initialt hos 26 hundar och låg inom normalvärden hos flertalet av dessa. 3-10 dagar senare analyserades kreatinin enbart hos 3 hundar, varav samtliga var inom normalgränserna.



Figur 4. Analyserade ALAT och ALP värden hos hundar med IMHA graderade initialt och 3-10 dagar senare.

Enligt journalerna var prov tagna för kontroll av Borrelia-/Anaplasmatittrar från 9 av de 63 hundarna. Hos en hund analyserades bara antikroppar mot Borrelia, hos en annan bara mot Anaplasma och hos resterande hundar kontrollerades båda värdena. Samtliga värden visade negativa resultat. Urinprov analyserades hos 29 hundar. Proteinuri påvisades hos 16 stycken. Av dessa hade 4 hematuri och 3 stycken ökad mängd leukocyter i urinen. Glukosuri beskrevs hos en hund, och hemolys beskrevs hos 2 hundar. Röntgen och/eller ultraljud utfördes på 31 hundar. Splenomegali konstaterades hos 12 av dessa, medan hepatomegali upptäcktes hos 4 stycken.

Tabell 4 visar fem olika behandlingsalternativ som användes vid de två djursjukhusen inom de tre första dagarna. Endast kortison gavs som behandling till 18 av 63 hundar totalt. Dygnsdosen varierade mellan 1-3 mg/kg kroppsvikt initialt. Den vanligaste förekommande dosen var 2 mg/kg kroppsvikt. Tjugofem hundar behandlades med både kortison och azathioprin. Enbart azathioprin gavs till en hund i Uppsala. Den vanligaste doseringen för azathioprin var 2 mg/kg kroppsvikt. Tre stycken av hundarna fick kortison och blodtransfusion och kombinationen kortison, azathioprin och blodtransfusion gavs till 11 stycken hundar.

Tabell 4. Olika behandlings alternativ som utfördes på hundarna inom 3 dagar efter ankomst till de två djursjukhusen. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar med viss behandling och det totala antalet hundar från respektive grupp

Behandlingar	Strömsholm n=26	Uppsala n=37	Antal totalt n=63
Kortison	10 st (38 %)	8st (22 %)	18 st (29 %)
Kortison & azathioprin	8st (31 %)	17 st (46 %)	25 st (40 %)
Azathioprin	0 st	1 st (3 %)	1 st (2 %)
Kortison & blodtransfusion	1 st (4 %)	2 st (5 %)	3 st (5 %)
Kortison, azathioprin & blodtransfusion	4 st (15 %)	7 st (19 %)	11 st (17 %)

Femtio två hundar behandlades med vätska intravenöst. Främst användes Ringeracetat och Rehydrex med glukos. Totalt behandlades 46 hundar med antibiotika. Amoxicillin var det preparat som användes mest i Uppsala medan man på djursjukhuset i Strömsholm behandlade hälften av hundarna med doktacillin. Sex stycken (10 %) av alla hundarna fick även syrgasbehandling i kombination med någon av behandlingarna i tabell 4. Fyra hundar avlivades utan behandling med kortison och/eller azathioprin. Helblod/plasma gavs till 14 stycken hundar inom 3 dagar. Hälften av dessa hundar hade autoagglutination före blodgivan. Utöver dessa 14 hundar var det ytterligare 2 stycken som fick blodgiva 6 respektive 4 dagar efter ankomst till djursjukhusen.

Hundarna i studien bedömdes ha recidiv när det passerat $\geq \frac{1}{2}$ år efter avslutad behandling. Tre hundar i studien fick recidiv efter avslutad IMHA behandling. Hos två av dessa ansågs orsaken vara en trolig immunmedierad trombocytopeni. En hund fick ett recidiv med klassiska symtom på IMHA.

Överlevnad

Prognosen för långsiktig överlevnad hos hundar med IMHA bör bedömas som avvaktande. Tabell 5 visar överlevnaden i denna studie. Totalt överlevde 35 stycken (56 %) de första 6 dagarna.

Tabell 5. Totalt antal hundar i studien som dog/överlevde inom 6 dagar efter ankomst till djursjukhuset. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet döda/överlevande hundar och det totala antalet hundar från respektive grupp

Dog/överlevde	Strömsholm	Uppsala	Antal totalt
Döda*	14 st (54 %)	14 st (38 %)	28 st (44 %)
Överlevande	12 st (46 %)	23 st (62 %)	35 st (56 %)
Totalt	26 st	37 st	63 st

**Av Strömsholms hundar avlivades 13 stycken och en självdog. Av Uppsalas hundar har 12 stycken avlivats och 2 stycken självdött.*

Medelåldern hos hundarna som dog i denna sammanställning var 6 år och 7 månader med en variation från 13 mån till 13 år. Sammanlagt avlivades/dog 28 hundar inom en 6 dagars period. Av dessa var 12 stycken hanhundar och 16 stycken tikar. Tre hundar dog inom ett år efter insjuknandet och 4 stycken dog när det gått mer än ett år.

Överlevnaden i förhållande till graden av anemi visas i tabell 6. Av 12 hundar med grav anemi överlevde 3 stycken (25 %) de 6 första dagarna. Kraftig anemi påvisades hos 28 hundar och av dem överlevde 12 stycken (43 %). Hos hundar med lindrig till måttlig anemi var överlevnaden betydligt högre, bland dessa hundar överlevde 16 stycken (80 %).

Tabell 6. Olika grad av anemi jämfört med överlevnad inom en 6 dagars period

Grad av anemi	Överlevnad inom 6 dagar
Grav (n=12)	3 st (25 %)
Kraftig (n=28)	12 st (43 %)
Måttlig (n=19)	15 st (79 %)
Lindrig (n=1)	1 st

Vid en jämförelse mellan överlevande inom de första 6 dagarna och olika typ av behandling, har antalet hundar med grav och kraftig anemi slagits samman. Av 14 hundar som fick enbart kortison överlevde 5 stycken (36 %) och av 12 som fick kortison i kombination med azathioprin överlevde 5 stycken (42 %). Kortison och blodtransfusion gavs till en hund och den överlevde. Två hundar av tio (20 %) överlevde efter behandling med kortison, azathioprin och blodtransfusion.

Tabell 7 visar jämförelsen mellan de olika symtomen och överlevnad. Samtliga hundar från Strömsholm som dog inom 6 dagar hade bleka slemhinnor och trötthet. Bland hundarna från djursjukhuset i Uppsala var det 86 % som uppvisade bleka slemhinnor och 79 % trötthet. Fyrtiotre procent av hundarna som dog hade förhöjd kroppstemperatur. Av Strömsholms hundar påvisades rödfärgad urin hos 50 %, medan detta symptom visade sig hos enbart 21 % av Uppsalas hundar. Inappetens fanns hos 68 % av hundarna som dog.

Tabell 7. Framträdande symptom hos de hundar som avlivades/dog inom de 6 första dagarna på djursjukhus. Procentandelen är beräknad som kvoten av antalet hundar med viss symtombild och det totala antalet hundar från respektive grupp

Symtom	Avlivade/döda inom 6 dagar		
	Strömsholm n=14st	Uppsala n=14st	Totalt n=28st
Bleka slemhinnor	14 st (100 %)	12 st (86 %)	26 st (93 %)
Trötthet	14 st (100 %)	11 st (79 %)	25 st (89 %)
Inappetens	10 st (71 %)	9 st (64 %)	19 st (68 %)
Vinglig	4 st (29 %)	5 st (36 %)	9 st (32 %)
Dyspnè	7 st (50 %)	5 st (36 %)	12 st (43 %)
Feber >39.5°	6 st (43 %)	6 st (43 %)	12 st (43 %)
GI- symptom*	3 st (21 %)	5 st (36 %)	8 st (29 %)
Rödfärgad urin	7 st (50 %)	3 st (21 %)	10 st (36 %)

*Gastrointestinala symptom

Hos två av hundarna med grav anemi påvisades autoagglutination och hos 7 stycken såväl autoagglutination samt sfärocyter. Av dessa hundar överlevde en hund från varje grupp. Måttlig till kraftig anemi sågs hos 47 hundar. Av dessa hundar hade 22 stycken autoagglutination samt sfärocyter varav 13 stycken överlevde. Fyra hundar hade endast autoagglutination och ingen av dessa överlevde. Av 40 hundar med grav och kraftig anemi fick 11 stycken blodtransfusion. Tre (27 %) av dessa hundar överlevde medan 12 (41 %) av de resterande 29 hundarna som inte fick blodtransfusion överlevde. Initialt konstaterades trombocytopeni hos 23 hundar av de 63 hundar som ingick i studien. Tretton stycken (57 %) av dessa avlivades/dog. Totalt avlivades/dog 35 stycken (56 %) inom hela undersökningsperioden.

DISKUSSION

IMHA är en hematologisk sjukdom där en relativt dålig prognos rapporterats (Miller 1996). Detta stämmer väl överens med resultatet från vår studie.

Tikar har enligt flera studier rapporterats vara överrepresenterade vid IMHA (Day 1999b; Reimer *et al* 1999; Tizard 1999). I studier där många hundar varit kastrerade är dock jämförelsen mellan könen mer osäkra (Burgess *et al* 2000). Resultaten från denna journalgenomgång visar att frekvensen tikar som insjuknade enligt journaluppgifterna från Uppsala var cirka 70 %, vilket stämmer med uppgifterna i litteraturen. Enligt journalerna från Strömsholm var skillnaderna mellan könen betydligt mindre. Enbart 5 stycken av tikarna i vår studie var kastrerade. Totala antalet tikar var 60 % och hanar 40 %. Huruvida hormonpåverkan skulle ha någon effekt avseende könsfördelningen av IMHA hos hundarna i vår studie var det på grund av för litet material svårt att göra någon utvärdering om. De relativt få hundarna i studien kan också vara en möjlig orsak till skillnaderna i frekvens mellan de två djursjukhusen.

Enligt Reimer *et al* (1999) var åldersfördelningen för hundar med IMHA 1 till 13 år, med ett medianvärde på 6 år. Denna åldersfördelning överensstämmer väl med resultaten från den här studien, där den yngsta hunden var 11 månader och den äldsta var mer än 12 år. Cirka 50 % av hundarna i vår studie insjuknade vid 2-6 års ålder. I litteraturen finns det beskrivet att hundar som insjuknar i IMHA oftast är 5 år eller yngre (Gough 2002).

IMHA ses hos flera olika raser. Cocker spaniel har 3.3 gånger större risk att drabbas av IMHA enligt Burgess *et al* (2000). Klag *et al* (1993) visade att cocker spaniel, engelsk springer spaniel och collie hade 4.0, 7.6, respektive 7.2 gånger större risk att drabbas av sjukdomen än andra raser. I journalgenomgången från Uppsala var också cocker spaniel och springer spaniel överrepresenterade. I materialet från Strömsholm fanns det ingen cocker spaniel men flera springer spaniel. Utmärkande för båda djursjukhusen beträffande raser var att strävvhårig tax var frekvent förekommande. Detta kan bero på att strävvhårig tax är en av de vanligaste hundraserna i Sverige. Även irländsk setter har rapporterats förekomma i ökad frekvens (Gough 2002). I journalgenomgången ses en ökad frekvens av irländsk setter i Uppsalas material men inte i Strömsholms. Enligt Reimer *et al* (1999) har golden retriever en reducerad risk att få IMHA, vilket inte visats i tidigare studier. Ingen golden retriever fanns rapporterad i journalgenomgången från vare sig Uppsala eller Strömsholm. I vår studie var en eventuell ökad risk för sjukdomen i någon speciell ras omöjlig att avgöra på grund av för få hundar i varje ras.

Bleka slemhinnor och trötthet var de två vanligast förekommande symtomen i vår studie. Samtliga hundar från Strömsholm hade bleka slemhinnor, medan 96 % visade trötthet. Hos hundarna från Uppsala konstaterades bleka slemhinnor och trötthet hos 86 respektive 81 %. Den troligaste förklaringen till skillnaden mellan grupperna kan vara att fler av Strömsholms hundar hade en allvarligare grad av anemi. Feber påvisades hos 38 % av hundarna, vilket är en högre siffra jämfört med litteraturen. Orsaken till detta skulle kunna bero på att kroppstemperaturen mäts mer frekvent i Sverige jämfört med USA eller Canada där studier av sjukdomen tidigare utförts.

I denna studie såg man en förskjutning från kraftig till måttlig och lindrig anemi 3-10 dagar efter initialvärdena. Den troligaste förklaringen till detta är att hundarna har svarat på insatt behandling. I studien sågs också att trombocytvärdena i flera fall initialt låg under normalgränsen. Detta hade efter 3-10 dagar ofta stabiliserat sig så att flera av värdena låg inom normalgränserna, vilket även visar att hundarna har svarat på behandlingen. Leukocytvärdena var däremot ofta både initialt och senare förhöjda. Leukocytos är i litteraturen ofta beskriven som ett fynd i samband med immunmedierad sjukdom eller möjligen som biverkan till behandling med kortison. Måttlig till kraftig leukocytos, en vänsterförskjutning av neutrofilerna och toxiska förändringar av neutrofilerna hos hundar med IMHA kan enligt en studie som utfördes på 34 hundar av McManus & Craig (2001) ge en misstanke om måttlig till grav vävnadsskada. Man påstod här att hundar med vävnadsskada kan få komplikationer av behandlingen och därmed sämre prognos. McManus & Craig (2001) menar även att skadorna ser ut att vara sekundära till en hypoxi i vävnaden till följd av anemin, tromboemboliska sjukdomar eller av båda. Behandlingarna borde fokuseras på att få en ökning av syrebärande kapaciteten i blodet samt en bättre övervakning av tromboemboliska sjukdomar (McManus & Craig 2001). En annan förklaring till leukocytos hos hundar med IMHA inkluderar en generaliserad stimulering av benmärgen som ett svar på anemin. Sekundärt till det inflammatoriska svaret ses då komplementaktivering med neutrofil kemotaxis (Lifton 1999).

Vanligtvis hänvisar man till att det är en fördel att analysera Coombs' test före insättning av immunosuppressiv behandling, men enligt vissa studier är detta inte helt nödvändigt på grund av att det kan ta flera veckor innan antikroppstitrarna försvinner (Day 1999b). I vår studie var testet utfört på 11 stycken (17 %) av hundarna. Bara 3 stycken av dessa visade ett positivt resultat. Testet utfördes hos 5 (45 %) av hundarna trots att Coombs' test vanligen inte anses möjlig att analysera då autoagglutination föreligger (Klag *et al* 1993).

Autoagglutination och/eller sfärocyter är viktiga parametrar vid bedömning av IMHA. I vår undersökning påvisades autoagglutination hos 62 % och sfärocyter hos 90 % av hundarna. Detta kan jämföras med en retrospektiv studie på 72 hundar där sfärocyter påvisades hos 94 % och autoagglutination hos 42 % (Carr *et al* 2002).

ALAT och ALP var förhöjda både initialt och efter 3-10 dagar. En trolig orsak till detta var behandlingarna med kortison och/eller azathioprin. Enligt litteraturen är det en av de vanligaste orsakerna till förhöjda levervärden vid IMHA. Det kan också vara en påverkan från hemolysen i blodet (Day 1999b; Lifton 1999). Carr *et al* (2002) beskriver i sin studie ett samband mellan förhöjda ALP värden och tromboembolism. Carr beskriver även en ökad mortalitet hos de hundar med IMHA som hade höga ALP värden. ALP värdet är analyserat hos så få hundar i vår studie att det är svårt att se något säkert samband. Inga tecken på tromboembolism fanns beskrivna i journalerna i vår studie.

Urinprov analyserades hos 29 (46 %) av hundarna. Hos 55 % av dessa kunde proteinuri påvisas, vilket hos några sågs i samband med hematuri och ökad mängd leukocyter i urinen. Hos resterande hundar där ingen orsak till proteinuri konstaterats kan man fundera på olika orsaker. Bland annat skulle en njurskada kunna orsaka detta tillstånd. En orsak till njurskadan kan vara att fritt hemoglobin skadar njuren och därmed inducerar ett proteinläckage. En annan orsak kan vara att det sker en immunologisk reaktion med antikropp/antigen komplex vilket kan påverka basalmembranet i glomeruli (Miller 1996; Kumar *et al* 1997).

Kortison anses fortfarande vara förstahandspreparat vid behandlingen mot IMHA, vilket finns beskrivet i ett flertal artiklar och läroböcker (Day 1999b; Grundy 2001). Enligt Cotter (1992) finns det inte några bevis på att behandling med kortison i högre doser än 1 mg/kg administrerade var 12 timme skulle ge någon bättre effekt jämfört med doser på ≤ 1 mg/kg. Det här uttalandet fick inte stöd av andra studier. Grundy *et al* (2001) menar att kortison ger en icke specifik behandling av immunmedierade sjukdomar. Hon menar även att den påverkar inflammationen och immunfunktionen och vid användandet av höga doser kan hunden få komplikationer som infektion, sepsis och tromboemboliska sjukdomar. Trots att kortison ger en första positiv effekt hos hundar med IMHA så är en kombinerad behandling med azathioprin att rekommendera för patienter med dålig regeneration, med ökad intolerans mot höga doser kortison samt till hundar som kräver långtidsbehandling (Grundy *et al* 2001). I vår studie var den vanligaste förekommande dosen för behandling med kortison 2 mg/kg. En fundering här kan vara om hundarna skulle klara sig på en lägre dos av kortison. Oftast brukar kortisondosen sänkas vid insättande av azathioprin.

Tjugonio procent av hundarna fick enbart kortison, medan 40 % fick både kortison och azathioprin. Kombinationen av kortison och azathioprin var den mest använda behandlingen i vår studie. Det man får ha i åtanke är att de hundar som fick både kortison och azathioprin som behandling oftast fick endast kortison initialt. Azathioprin blev ofta insatt 2 -3 dagar senare när hunden inte visat någon förbättring av kortisonbehandlingen.

Reitemeyer *et al* (2000) beskriver att blodtransfusioner och plasma är en bra och säker behandling av hundar med nedsatt syretransporterande kapacitet. Matus (1985) beskriver dock blodtransfusioner vid behandling av IMHA som kontroversiellt på grund av livshotande komplikationer. Blodtransfusioner uppges vara särskilt riskfyllda då hemolysen är intravaskulär. Det kan dock vara av värde att ge blod när man vill försöka förbättra ett kraftigt nedsatt allmäntillstånd. Att under en behandling ge flera blodtransfusioner har visat sig ge ökad risk för pulmonär tromboembolism (Carr *et al* 2002).

I vår studie fick 22 % av hundarna blod/plasma som behandling. Autoagglutination i blodet konstaterades före blodgivan hos hälften av hundarna. Fjorton procent av dessa hundar överlevde. Sjuttiofem procent av hundarna som initialt konstaterades ha en grav anemi (n=12) visade sig ha autoagglutination i blodet. Blod-/plasmagiva har troligen använts på grund av att de varit i så dålig kondition vid ankomst till djursjukhus. Blodtransfusion som behandling tycktes i den här studien ge ett negativt resultat. Hos hundar med grav och kraftig anemi som fått blodtransfusion överlevde 3 hundar. Av de resterande hundarna i gruppen som inte fick blod var det 12 stycken som överlevde (41 %). Dessa siffror tyder på att det kan vara negativt att få blod. Förklaringen ligger troligtvis i att hundarna hade autoagglutination. Eftersom autoagglutination i sig kan orsaka antikropp/antigen komplex är risken ännu större vid behandling med blodtransfusioner. Till hundar med påvisad autoagglutination bör därför blodtransfusioner helst inte ges eftersom hundarnas tillstånd då kan försämrats ytterligare. En annan möjlig förklaring kan vara att de hundar som behandlades med blod redan initialt var i sämre skick än de som inte fick det och därför hade en sämre överlevnad.

Vid jämförelse mellan graden av anemi och överlevnad inom en 6 dagarsperiod överlevde 25 % av hundarna med grav anemi. De hundar som hade kraftig eller måttlig anemi fick en överlevnad på 43 % respektive 79 %. Överlevnadsprocenten tycks sålunda öka vid minskande grad av anemi.

Överlevnaden i förhållande till de olika behandlingsalternativen visar att av de hundar som fick både kortison och azathioprin överlevde 42 %. Av de hundar som fick enbart kortison överlevde 36 %. Detta kan tyda på att hundar som behandlas med både kortison och azathioprin kan få en ökad överlevnad.

I en studie av 70 hundar med IMHA (Reimer *et al* 1999) rapporterades en mortalitet på totalt 70 %. I en annan studie av Carr *et al* låg mortaliteten på 58 %. Trombocytopeni, förhöjda koncentrationer av bilirubin i serum samt hypoalbuminemi ansågs vara orsaker som påverkat dödligheten i Carrs studie. Skillnaden i mortalitet kan bero på olika svårighetsgrad av sjukdomen. Detta kan i sin tur bero på att det varit olika inklusionskriterier i de olika studierna. I vår studie hade 23 hundar trombocytopeni initialt och av dessa dog 13 stycken. Mortaliteten totalt bland de 63 hundarna i detta material var 56 % varav 3 stycken (8,6 %) självdog under den akuta behandlingens gång. Mortaliteten stämmer sålunda överens med Carrs studie.

Av de hundar som dog i vår studie var de flesta avlivade. Det kan vara svårt att avgöra i en retrospektiv studie om hundarna avlivats på grund av sjukdomens dåliga prognos, ekonomiska aspekter eller hur allvarligt sjuka hundarna var.

Sammanfattningsvis finns det enligt vår studie flera negativa faktorer som tycks kunna påverka överlevnaden hos en hund med IMHA. En faktor är graden av anemi. Hundar med grav anemi hade sämre förutsättningar att överleva. En annan negativ faktor är om hunden inte svarat på behandlingen inom 6 dagar. Ytterligare en faktor är om hundarna hade trombocytopeni i samband med IMHA. Autoagglutination och blodtransfusioner var ytterligare två faktorer som kan ha påverkat hundarna negativt. Även intravaskulär hemolys påverkade överlevnaden hos hundarna.

IMHA är en sjukdom som är svår att utreda. Flera undersökningar är gjorda tidigare och resultaten har i en del av studierna sett olika ut, vilket kan ha påverkats av olika faktorer. Sjukdomsbilden är mångfacetterad och svårighetsgraden kan variera kraftigt. Som nämnts ovan skiljer sig inklusionskriterierna ofta åt mellan olika studier. Svårigheten vid en retrospektiv studie är också att viss information runt patienterna kan saknas. Vidare studier krävs därför för att förbättra behandlingar och förutsättningen för ökad överlevnad för hundarna med IMHA.

TACK

Detta arbete har kunnat utföras med hjälp av: personal från avdelningen för kirurgi och medicin, smådjur i Uppsala, Annica T Rowe på Regiondjursjukhuset i Strömsholm, personalen på laboratoriet i Strömsholm samt personalen på avdelningen för klinisk kemi i Uppsala (särskilt Inger Lilliehöök). Jag har fått hjälp med tillgång till alla journalerna samt fått vägledning angående en del hematologiska parametrar och provtagningar. Dessutom vill jag varmt tacka min handledare Astrid Hoppe och min biträdande handledare Helene Hamlin utan vilkas hjälp detta arbete inte kunnat utföras. Slutligen vill jag även bifoga ett mycket speciellt tack till min nära vän och veterinärkollega Anna-Carin Sjöberg som varit mitt bollplank och stora stöd i sammanställningen av detta arbete.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Artursson, K, Gunnarsson, A, Wikström, U-B, & Olsson Egenvall, E. (1999). A serological and clinical follow-up in horses with confirmed equine granulocytic ehrlichiosis. *Equine Vet J.* 31: 473-477.
- Burgess, K, Moore, A, Rand, W, & Cotter, M. (2000). Treatment of Immune-Mediated Hemolytic Anemia in Dogs with Cyclophosphamide. *J Vet Intern Med.* 14, 456-462.
- Carr, A.P, Panciera, D.L, & Kidd, L. (2002). Prognostic Factors for Mortality and Thromboembolism in Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia: A Retrospective Study of 72 Dogs. *J Vet Intern Med.* 16, 504-509.
- Chandler, E.A, Thompson, D.J, Sutton, J.B, & Price, C.J. (1991). *Canine Medicine and Therapeutics.* 3:e upplaga, Avon, England. 423-428.
- Cotter, S.M. (1992). Autoimmune Hemolytic Anemia in Dogs. *North American Edition, Continuing Education Article #5,* 14, (1), 53-58.
- Day, M.J. a) (1999). Antigen specificity in canine autoimmune haemolytic anaemia. *Vet Immunol Immunopathol.* 69, 215-224.
- Day, M.J. b) (1999). *Clinical Immunology of the Dog and Cat.* Manson Publishing Ltd, London, UK. 70-78.
- Diehl, K.J. (1996). Diagnosis and Management of Intravascular Autoimmune Hemolytic Anemia in the Dog. *J Vet Allerg Clin Immunol.* 4, (4) 138-140.
- Egenvall, A, Bjöersdorff, A, & Lilliehöök I. (1998) et al. Early manifestations of granulocytic ehrlichiosis in dogs inoculated experimentally with a Swedish *Ehrlichia* species isolate. *Vet Rec.* 143:412-417.
- FASS, (2006). LINFO läkemedelsinformation AB Stockholm, Sverige.
- Feldman, B.F, Handagama, P, & Lubberink A.A.M.E. (1985). Splenectomy as adjunctive therapy for immune-mediated thrombocytopenia and hemolytic anemia in the dog. *JAVMA.* 187 (6), 617-619.
- Gough, A. (2002). Immune-mediated haemolytic anaemia. *Veterinary TIMES* 23rd sept. 26-27.
- Grundy, S.A. & Barton, C. (2001). Influence of drug treatment on survival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). *JAVMA.* 218, (4), 543-546.
- Hansson, H. (1994). Autoimmun hemolytisk anemi. *Doggy Rapport.* 18, (2), 15.
- Hansson, H, Trowald-Wigh, G & Karlsson-Parra, A. (1996). Detection of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence in dog sera: Comparison of rat liver tissue and human epithelial-2 cells as antigenic substrate. *J Vet Intern Med.* 10, 199-203.
- Jain, N.C. *Schalm's Veterinary Hematology.* (1986). 4:e upplagan, Philadelphia, USA.
- Jubb, K.V.F, Kennedy, P.C & Palmer, N. (1997). *Pathology of Domestic Animals.* 4:e upplagan, San Diego, USA. 3:62-64 & 2: 587-588.
- Klag, A.R, Giger, U, & Shofer, F.S. (1993). Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 42 cases (1986-1990). *JAVMA.* 202 (5), 783-788.
- Kumar, V, Cotran, R.S, & Robbins, S.L. (1997). *Basic pathology.* 6:e upplagan, W.B. Saunders Company, Pennsylvania, USA. 440-454.
- Lifton, S.J. (1999). Managing immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Veterinary Medicine.* 532-546.

- McManus, P.M, & Craig, L.E. (2001). Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999). *JAVMA*. 218 (8), 1308-1313.
- Mason, N, Duval, D, Shofer, F.S, & Giger, U. (2003). Cyclophosphamide Exerts No Beneficial Effect over Prednisone Alone in the Initial Treatment of Acute Immune-Mediated Hemolytic Anemia in Dogs: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Vet Intern Med*. 17, 206-212.
- Matus, R.E, Schrader, L.A, Leifer, C.E, Gordon, B.R, & Hurvitz, A.I. (1985). Plasmapheresis as adjuvant therapy for autoimmune hemolytic anemia in two dogs. *JAVMA*. 186 (7), 691-693.
- Miller, E. (1996). Complications of Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *J Vet Allerg Clin Immunol*. 4 (4), 134-137.
- Miller, S.A, Hohenhaus, A.E, & Hale, A.S. (2004). Case-control study of blood type, breed, sex and bacteremia in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *JAVMA*. 224 (2), 232-235.
- Petäjä, O. (1999). *Primär immunmedierad hemolytisk anemi hos hund: Litteratur och fallstudie. Fördjupningsarbete*, Ultuna, SLU.
- Reimer, M.E, Troy, G.C, & Warnick, L.D. (1999). Immune-Mediated Hemolytic Anemia: 70 Cases (1988-1996). *J Am Anim Hosp Assoc*. 35(5), 384-391.
- Reitemeyer, S, Kohn, B, Brunnberg, L, & Giger, U. (2000). Summary: Transfusions of whole blood and packed red blood cells in dogs. *Kleintierpraxis*. 45:9, 669.
- Richards, M. (1999). Coombs' test. Encyclopedia of Canine Veterinary Medical Information. <http://www.vetinfo.com/dencyclopedia/decoombs.html>; den 21 augusti.
- Scott-Moncrieff, J.C. (1996). Advances in the Diagnosis and Treatment of Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *J Vet Allerg Clin Immunol*. 4 (1), 8-10.
- Scott-Moncrieff, J.C.R, Reagan, W.J, Snyder, P.W, & Glickman, L.T. (1997). Intravenous administration of human immune globulin in dogs with immune-mediated hemolytic anemia. *JAVMA*. 210 (11), 1623-1627.
- Scott-Moncrieff, J.C, Treadwell, N.G, McCullough, S.M, & Brooks, M.B. (2001). Hemostatic Abnormalities in Dogs With Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia. *J Am Anim Hosp Assoc*. 37, 220-227.
- Tizard, I.R. (2004). *Veterinary Immunology an Introduktion*. 7:e upplagan, London. 395-396.

