ANEMIA HEMOLÍTICA EM CÃES: RELATO DE CASO

Silvia Franco Andrade [1], Mariele Catherine Silva [2], Danielle Alves Silva, Lundia Luara Bin [3]

[1] Docente do Curso de Medicina Veterinária e do Programa de Mestrado em Ciência Animal da UNOESTE. [2] Residente da Clínica Médica de Pequenos Animais do HV da UNOESTE. [3] Residente do Laboratório Clínico do HV da UNOESTE

RESUMO

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é definida como uma redução do número de eritrócitos em decorrência da destruição dos mesmos pelo sistema imune devido à presença de imunoglobulinas (IgM e IgG) na membrana do eritrócito. Foram atendidos dois casos desta enfermidade, os quais foram diagnosticados pela somatória historia clínica, resultados dos exames e evolução positiva mediante tratamento clínico efetivo. Esse relato tem por objetivo fazer uma breve revisão do assunto e contribuir com mais dados sobre essa doença.
Palavras-chave: Anemia imunomediada. Esferócitos. Hemólise. Cães.

HEMOLYTIC ANEMIA IN DOGS: A CASE REPORT

ABSTRACT

Imunne-mediated hemolytic anemia (IMHA) is defined as a reduction in the number of red cells due to the destruction of them by the immune system due to the presence of immunoglobulins (IgM and IgG) in the erythrocyte membrane. Were attempted two cases of this disease, which were diagnosed by the sum clinical history, examination results and positive development through effective clinical treatment. This report aims to briefly review the issue and contribute with more data about this disease
Keywords: Anemia immune-mediated. Spherocytes. Hemolysis. Dogs.

INTRODUÇÃO

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é definida como uma redução do número de eritrócitos em decorrência da destruição por imunoglobulinas ou pelo sistema complemento – hemólise intravascular ou ainda, pela remoção promovida pelo sistema monocítico fagocitário – hemólise extravascular - (MILLER, 2000; STONE, 2008). A AHIM é reconhecida como causa frequente do desenvolvimento de quadros anêmicos agudos em cães, podendo ter diferentes manifestações clínicas, responsivas ou não à terapia imunossupressiva única com corticosteróides, algumas vezes evoluindo desfavoravelmente, podendo levar ao óbito (MILLER, 1997; HARKIN et al., 1998).

A AHIM em cães costuma ser classificada como idiopática porque não se pode determinar uma causa predisponente. Em geral, o animal acometido responde ao tratamento com imunossupressores, ainda que não se consiga identificar um agente etiológico especifico (RADOSTITS; TYLER; MAYTEW, 2000). No entanto pode haver envolvimento de fatores genéticos, como descrito por Stone (2008) nas raças de cães, como Cocker Spaniel, Poodle e Old English Sheep Dog. A AHIM pode também ser secundária a erliquiose e hemobartonelose canina (GOODMAN; BREITSCHWERDT, 2005; SANCHES, 2008).

Os sinais e sintomas mais comuns dos cães com AHIM são apatia, intolerância ao exercício, palidez de mucosas ou icterícia, alterações na coloração da urina, febre, sopro cardíaco sistólico, hepatoesplenomegalia, taquicardia e ou taquipnéia (STONE, 2008).

Nos exames laboratoriais pode-se encontrar anemia geralmente regenerativa, leucocitose e presença de esferócitos no esfregaço sanguíneo que aparecem como um sinal característico dessa enfermidade devido à eritrofagocitose (SANCHES, 2008). No perfil bioquímico é possível encontrar maior atividade de enzimas hepáticas (acredita-se que isso indique lesão por hipoxia) e hiperbilirrubinemia. As imagens ultrassonograficas do abdômen revelam mais comumente, discreta hepatoesplenomegalia (indicando hiperatividade do sistema fagocítico mononuclear) (STONE, 2008).

O tratamento baseia-se no uso de imunossupressores e tratamento suporte como transfusão sanguínea devido aos baixos valores de hematócrito, além de fluidoterapia e antibioticoterapia (PIEK et al., 2008). Segundo Stone (2008), valores superiores a 15% não necessitam de transfusão e a monitoração do paciente deve ser realizada até o volume globular (VG) chegar a 25%. Os imunossupressores utilizados são a prednisolona ou prednisona associada ou não a outros imunossupressores como a azatioprina, ciclofosfamida e ciclosporina (MASON et al., 2003; PIEK et al., 2008; MURRAY; GASSER; HESS, 2009). Outra alternativa terapêutica seria o uso de danazol, um esteróide androgênico, utilizado em humanos no tratamento de endometriose e doença fibrocística de mama e no tratamento profilático de angioedema que parece ser benéfico em cães com AHIM e trombocitopenia imunomediada (TIM) (HOLLOWAY; MEYER; MANNELLA, 1990; MILLER, 1997).

O prognóstico é reservado a bom nos casos moderados, embora os moderados com rápida progressão e os que apresentam hemólise grave tem o prognóstico muito reservado (PIEK et al., 2008).

O objetivo do presente relato é fazer uma breve revisão do assunto e contribuir com mais dados sobre essa doença.

RELATO DOS CASOS

Caso n. 1

Animal de nome Patina, canina, fêmea, 3 anos, Rottweiler, 34kg, com queixa de apatia, anorexia, letargia e emagrecimento progressivo. Durante o exame clínico, notou-se um paciente bem debilitado com uma grande carga de carrapatos, icterícia marcante, dores a palpação abdominal e esplenomegalia. Foram solicitados hemograma com pesquisa de hematozoários, uréia, creatinina, alaninoaminotranferase (ALT), alaninoaminoaspartase (AST), Bilirrubina, fosfatase alcalina (FA) e ultra-sonografia abdominal.

O ultra-som revelou esplenomegalia com ecotextura preservada e fígado sem alterações. Após resultados dos exames, iniciou-se o tratamento com transfusão sanguínea, associação dos antibióticos enrofloxacino 5mg/kg BID, SC, ampicilina 20mg/kg TID, IV e metronidazol 15mg/kg BID, IV, silimarina 50mg/kg SID, VO, metoclopramida 0,5mg/kg TID, IV e ranitidina 2mg/kg TID, IV. Porém o animal não apresentava melhora e após dois dias do inicio do tratamento foi reavaliado o perfil hematológico da paciente (Tabela 1), no qual foi constatado piora do quadro, com presença de eritrócitos e hematócrito em níveis mais baixos que o encontrado no primeiro exame e ainda a presença de esferócitos na lâmina. Após análise deste último hemograma suspeitou-se de AHIM. Adicionou-se ao tratamento dexametasona 0,5mg/kg (dose imunossupressora) SID, SC, observando uma melhora no quadro e remissão completa dos sintomas após 7 dias.

TABELA 1 - Hemograma do animal do caso n.1.

ERITROGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Eritrócitos	2,92	5,5-8,5 x 10^6/mm^3
Hemoglobina	7,1	12-18 g/dL
Hematócrito	23,8	37-55 %
VCM	81,5	60-77 fl
HCM	24,3	19-34,5 pg
CHCM	29,8	31-36 %
PPT	9,6	6-8 g/dL
Fibrinogênio	600	200-400 mg/dL
I.I.	50	2-5
Plaquetas	186	200-900 x 10^3/mm^3
S.V.: Acentuada anisocitose hipocrômica, com presença de policromasia, corpúsculos de Howell-Jolly, esferócitos e eritroblastos.		

LEUCOGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS/ mm^3
Leucócitos	73900	6000-17000
Bastonetes	5173	0-540
Segmentados	60080,7	3000-11500
Eosinófilos	739	100-1250
Linfócitos	3103,8	1000-4800
Monócitos	4803,5	150-1350
S.B.: Pesquisa de Hematozoário: Amostra negativa		

BIOQUÍMICA CLÍNICA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Bilirrubina Total	19,65	0,10-0,50 (mg/dL)
Bilirrubina Direta	12,39	0,06-0,12 (mg/dL)
Bilirrubina Indireta	7,26	0,01-0,49 (mg/dL)
ALT	58,0	10,0-88,0 (U/L)
AST	165,0	10,0-88,0 (U/L)
FA	382,0	12,0-110,0 (U/L)
Uréia	112,3	21-60 (mg/dL)
Creatinina	0,83	0,5-1,6 (mg/dL)

Um novo exame hematológico foi feito, em que se notou série vermelha normalizada e alteração persistente na função hepática (Tabela 2). O animal teve alta e foi para casa com a seguinte prescrição para 1 mês: prednisolona 2mg/kg BID com regressão semanal da dose até 0,5mg/kg em dias alternados, silimarina 50mg/kg SID, ranitidina 2mg/kg TID, complexo vitamínico a base de ferro BID, doxiciclina 5mg/kg BID. O animal retornou após um mês de tratamento com completa melhora clínica e laboratorial.

TABELA 2 - Hemograma do animal do caso n. 1 no dia da alta.

ERITROGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Eritrócitos	5,85	5,5-8,5 x 10^6/mm^3
Hemoglobina	13,4	12-18 g/dL
Hematócrito	41,5	37-55 %
VCM	70,9	60-77 fl
HCM	22,9	19-34,5 pg
CHCM	32,3	31-36 %
PPT	7	6-8 g/dL
Fibrinogênio	400	200-400 mg/dL
I.I.		2-5
Plaquetas	177	200-900 x 10^3/mm^3
S.V.: Discreta anisocitose.		

LEUCOGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS/ mm^3
Leucócitos	10100	6000-17000
Bastonetes		0-540
Segmentados	6969	3000-11500
Eosinófilos	303	100-1250
Linfócitos	2222	1000-4800
Monócitos	606	150-1350
S.B.: Pesquisa de Hematozoários: Amostra Negativa		

BIOQUÍMICA CLÍNICA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
ALT	329,0	10,0-88,0 (U/L)
AST	101,0	10,0-88,0 (U/L)
FA	182,0	12,0-110,0 (U/L)
Uréia	32,5	21-60 (mg/dL)
Creatinina	0,88	0,5-1,6 (mg/dL)

Caso n. 2

Animal de nome Lindinha, canina, fêmea, 7 anos, raça Poodle, 4,7kg, , com queixa de apatia, anorexia, emagrecimento e vômito. Durante exame clínico notou-se presença de carrapatos, icterícia, desidratação e esplenomegalia. Foi solicitado hemograma com pesquisa de hematozoários, uréia, creatinina, AST, FA, Bilirrubinas. As alterações encontradas do exame hematológico estão descritas na Tabela 3.

TABELA 3 - Hemograma do animal do caso n. 2 do primeiro dia de atendimento.

ERITROGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Eritrócitos	1,63	5,5-8,5 x 10^6/mm^3
Hemoglobina	4,4	12-18 g/dL
Hematócrito	14,1	37-55 %
VCM	86,5	60-77 fl
HCM	27	19-34,5 pg
CHCM	31,2	31-36 %
PPT	7,6	6-8 g/dL
Fibrinogênio	400	200-400 mg/dL
I.I.		2-5
Plaquetas	74	200-900 x 10^3/mm^3
S.V.: Acentuada anisocitose hipocrômica. Rouleaux. 30% de eritroblastos. Presença de esferócitos.		

LEUCOGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS/ mm^3
Leucócitos	12500	6000-17000
Metamielócitos	625	
Bastonetes	1875	0-540
Segmentados	8250	3000-11500
Linfócitos	875	1000-4800
Monócitos	875	150-1350
S.B.: Pesquisa de hematozoários: amostra negativa		

BIOQUÍMICA CLÍNICA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Bilirrubina Total	6,78	0,10-0,50 (mg/dL)
Bilirrubina Direta	3,41	0,06-0,12 (mg/dL)
Bilirrubina Indireta	3,37	0,01-0,49 (mg/dL)
ALT	96,0	10,0-88,0 (U/L)
AST	445,0	10,0-88,0 (U/L)
FA	163,0	12,0-110,0 (U/L)
GGT	1,60	1,0-11,0 (U/L)
Uréia	59,9	21-60 (mg/dL)
Creatinina	0,44	0,5-1,6

A partir do resultado dos exames, e da historia clínica do animal foi diagnosticado AHIM. Iniciou-se o tratamento com transfusão sanguínea e antibioticoterapia com cloranfenicol 30mg/kg BID IV e dexametasona 0,5mg/kg SID, SC. Após 8 dias do inicio da terapêutica o animal apresentou melhora dos sintomas e então foram realizados novos exames (Tabela 4), os quais não apresentavam mais alterações na série vermelha.

TABELA 4 - Hemograma do animal do caso n. 2 no dia da alta.

ERITROGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
Eritrócitos	6,13	5,5-8,5 x 10^6/mm^3
Hemoglobina	14,9	12-18 g/dL
Hematócrito	46,1	37-55 %
VCM	75,2	60-77 fl
HCM	24,3	19-34,5 pg
CHCM	32,3	31-36 %
PPT	6,6	6-8 g/dL
Fibrinogênio	200	200-400 mg/dL
I.I.	Ndn	2-5
Plaquetas	488	200-900 x 10^3/mm^3
S.V.: Sem alterações morfotintoriais.		

LEUCOGRAMA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS/ mm^3
Leucócitos	6200	6000-17000
Bastonetes		0-540
Segmentados	5456	3000-11500
Eosinófilos	62	100-1250
Linfócitos	496	1000-4800
Monócitos	186	150-1350

BIOQUÍMICA CLÍNICA	VALORES ENCONTRADOS	VALORES REFERENCIAIS
ALT	84,0	10,0-88,0 (U/L)
AST	42,0	10,0-88,0 (U/L)
FA	23,0	12,0-110,0 (U/L)

O paciente teve alta e foi com a prescrição para 1 mês de: doxiciclina 5mg/kg BID, VO, Prednisolona 2mg/kg inicialmente BID, VO com regressão semanal até completar 0,5mg/kg em dias alternados VO, silimarina 50mg/kg SID, VO, omeprazol 0,7mg/kg SID, VO e complexo vitamínico com ferro suspensão 1ml VO. O animal retornou após um mês com melhora clínica e laboratorial completa.

DISCUSSÃO

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) até a década de 70 era pouco diagnosticada, havendo apenas alguns relatos descritos (KELLY; FARROW, 1970). Atualmente a AHIM é uma enfermidade relativamente comum em cães com anemia moderada a severa, porém ainda pouco se sabe a respeito de suas causas, o que faz do diagnóstico precoce e do tratamento adequado fatores fundamentais no sucesso desses casos (MILLS, et al., 1985; MILLER; HOHENHAUS; HALE, 2004).

Segundo Kelly (1970) anemia sem etiologia aparente, presença de esferócitos e eritroblastos circulantes, fragilidade eritrocitária e aglutinação indicam presença de AHIM. Outros autores sugerem o diagnóstico de anemia hemolítica, quando é encontrada reticulocitose de moderada a acentuada e parâmetros eritrocitários que vão de macrocíticos e normocrômicos a macrocíticos e hipocrômicos (MEYER; COLES; RICH, 1995; MONCRIEFT et al., 2001). Nos casos descritos no presente relato foi observada a presença de esferócitos e anisocitose hipocrômica.

Nos dois casos relatados neste artigo a etiologia foi desconhecida, apesar da presença de carrapatos em ambos animais a pesquisa de hematozoário foi negativa, o que também não descarta totalmente a hipótese de um hemoparasita ser o desencadeador do processo. Sanches (2008) relatou um caso de AHIM de origem parasitária em um animal com Erlichia canis e outros autores descreveram a AHIM em cães com hemobartonelose (GOODMAN; BREITSCHWERDT, 2005). De acordo com Oliveira (2006) as causas de AHIM permanecem desconhecidas, porém algumas hipóteses existem, como: depressão do sistema imune por ação viral, alteração do equilíbrio das células T citotóxica e T auxiliar, alteração dos antígenos de superfície dos eritrócitos por vírus ou drogas e, finalmente, reação cruzada dos anticorpos induzidos por agentes infecciosos contra antígenos de superfície. Porém, Garcia-Navarro (2005) preferiu classificar as anemias como de origem parasitária, tóxica e por distúrbios imunológicos. Mills et al. (1985) refere AHIM secundaria também a neoplasias. E por fim Stone (2008) relatou até o envolvimento de fatores genéticos com envolvimento das raças Cocker Spaniel, Poodle e Old English Sheep Dog.

Os animais analisados neste artigo apresentavam apatia, anorexia, letargia, icterícia e esplenomegalia o que é está de acordo com a literatura (MILLER, 2000; STONE, 2008). Stone (2008) acrescenta ainda, alterações na coloração da urina, febre, sopro cardíaco sistólico, hepatoesplenomegalia, taquicardia e ou taquipnéia.

O tratamento segundo Reimer, Troy e Warnick (1999), Moncrieff et al. (2001), Weinkle et al. (2005) Grundy e Barton (2001) é direcionado à imunossupressão e à imunomodulação com uso de corticóides (2 a 4mg/kg/SID ou 1 a 2mg/kg/BID), ciclofosfamida (50mg/m^2 a cada 48 horas), azatioprina (2mg/kg/SID), imunoglobulina humana (0,5 a 1,5g/kg), ciclosporina (10 a 15mg/kg/BID), danazol (5mg/kg/BID ou 4mg/kg/ TID), um esteróide androgênico, juntamente com a terapia de suporte com fluidoterapia, as transfusões sanguíneas, os antibióticos, e a aspirina (0,5mg/kg/SID) para evitar o tromboembolismo, entre outros. Os imunossupressores utilizados por Mason et al. (2003); Piek et al. (2008), Murray, gasser e Hess (2009) são a prednisolona ou prednisona associada ou não a outros imunossupressores como a azatioprina, ciclofosfamida e ciclosporina. Holloway, Meyer e Mannella (1990) concordam que o danazol é outra alternativa no tratamento da AHIM.

O prognóstico dessa enfermidade é reservado a ruim, visto que, em cerca de 70% dos casos classificados como primários, os animais em média vêm a óbito entre dez e quatorze dias após o início do tratamento, sendo o tromboembolismo a principal causa (MONCRIEFF et al., 2001). Para Piek et al. (2008) o prognóstico é reservado a bom nos casos moderados, embora os moderados com rápida progressão e os que apresentam hemólise grave tem o prognóstico muito reservado. Os dois casos relatados neste artigo, mesmo com prognóstico reservado, mostram que uma terapia suporte eficiente associada a uma terapia imunossupressora adequada aumenta as chances de cura do paciente com AHIM.

REFERÊNCIAS

GARCIA-NAVARRO, C. E. K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. p. 41-45.

GOODMAN, R. A.; BREITSCHWERDT, E. B. Clinicopathologic findings in dogs seroreactive to Bartonella henselae antigens. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 12, p. 2060-2064, 2005. http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.2060

GRUNDY, S. A.; BARTON, C. Influence of drug treatment on surv ival of dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 88 cases (1989-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, n. 4, p. 543-546, 2001. http://dx.doi.org/10.2460/javma.2001.218.543

HARKIN, K. R.; BRASELTON, W. E.; TVEDTEN, H. Pseudohypophosphatemia in two dogs with immune-mediated hemolytic anemia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 3, p. 178-181, 1998. http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1998.tb02115.x

HOLLOWAY,S. A.; MEYER, D. J.; MANNELLA, C. Prednisolone and danazol for treatment of immune-mediated anemia, thrombocytopenia, and ineffective erythroid regeneration in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, n. 8, p. 1045-1048, 1990.

KELLY, J. D. ; FARROW, B. R. H. Auto-immune haemolytic anaemia in a dog. **Australian Veterinary Journal**, v. 46, n. 10, p. 475-479, 1970. http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1970.tb09167.x

MASON, N. et al. 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. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 2, p. 206-212, 2003. http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02435.x

MEYER, D. J.; COLES, E. H.; RICH, L. J. **Medicina de Laboratório Veterinária**

Interpretação e Diagnóstico. 1.ed. São Paulo: Roca, 1995. p.20-21.

MILLS, J. N. et al. Autoimmune haemolytic anaemia in dogs. **Australian Veterinary Journal**, v. 62, n. 4, p.

121-123, 1985. http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1985.tb07257.x

MILLER, E. The use of danazol in the therapy of immune-mediated disease of dogs. **Semin Vet Med Surg (Small Animal)**, v. 12, n. 3, p. 167-169, 1997. http://dx.doi.org/10.1016/S1096-2867(97)80027-8

MILLER, E. CVT up date: diagnosis and treatment of immunemediated hemolytic anemia. In: BONAGURA, J. D. (Ed.). KIRK´S current veterinary therapy XIII. Small animal practice. Philadelphia: Saunders, 2000. p. 427-434.

MILLER, S. A.; HOHENHAUS, A. E.; HALE, A. S. Case-control study of blood type, breed,s ex and bacteremia in dogs with immunemediated hemolytic anemia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 2, p. 232-235, 2004. http://dx.doi.org/10.2460/javma.2004.224.232

MONCRIEFF, S. J. C. et al. Hemostatic abnormalities in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 37, n. 3, p. 220-227, 2001.

MURRAY, S. C.;GASSER, A.; HESS, R. S. Transient hyperglycaemia in a prediabetic dog treated with prednisone and cyclosporin A. **Australian Veterinary Journal**, v. 87, n. 9, p. 352-355, 2009. http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.2009.00474.x

OLIVEIRA, M. C. L. A. et al. Clinical course of autoimmune hemolytic anemia: an observational study. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 1, p. 58-62, 2006. http://dx.doi.org/10.2223/JPED.1438

PIEK, C.J. et al. Idiopathic immune-mediated hemolytic anemia: treatment outcome and prognostic factors in 149 dogs. **Journal of Veterinary of Internal Medicine,** v. 22, n. 2, p. 366-373,2008. http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0060.x

RADOSTITS, O. M.; TYLER, J. W.; MAYTEW, I. G. Elaboração de um Diagnóstico. In: RADOSTITS, O. M.; MAYHEW, I. G. J,; HOUSTON D. M. **Exame Clínico e Diagnóstico em veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2000. p. 11.

REIMER, M. E.; TROY, G. C.; WARNICK, L. D. Immune- mediated hemolytic anemia: 70 cases (1988-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, n. 5, p. 384-391, 1999.

SANCHES, M. P. Anemia Imunomediada secundaria a Erliquiose canina: Um caso de sucesso. Disponível em: <www.portalanhembi.br>. Acesso em: 23 fef. 2010.

STONE, M. Doenças Imunomediadas Sistêmicas. In: BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Manual Saunders-Clínica de Pequenos Animais. 3.ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 272-273.

WEINKLE, T. K. et al. Evaluation of prognostic factors, survival rates, and treatment protocols for immune-mediated hemolytic anemia in dogs: 151 cases (1993-2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 11, p. 1869-1880, 2005. http://dx.doi.org/10.2460/javma.2005.226.1869