

Diagnóstico e Tratamento da Anemia Hemolítica Autoimune: Uma Minirevisão

Diagnosis and Treatment of Autoimmune Hemolytic Anemia: A Short Review

Fábio Castro Ferreira¹, Isadora Cristina Mendes^{1*}, Telma Sousa Pires¹, Lilian Carla Carneiro², Lídia Andreu Guillo³, Waldemar Naves do-Amaral⁴, Rosália Santos Amorim Jesuino³

RESUMO

A anemia hemolítica autoimune (AIHA) é uma citopenia na qual ocorre a formação de autoanticorpos que se ligam a antígenos localizados na membrana eritrocitária, cujo mecanismo fisiopatológico dominante é a falha em manter a autotolerância. Pode ser idiopática ou acontecer de forma secundária ao uso de medicamentos, a infecções, outras doenças autoimunes, desordens linfoproliferativas, entre outros. Na AIHA por anticorpos quentes, os autoanticorpos reagem mais facilmente em temperatura corporal. Já na AIHA por anticorpos frios, os autoanticorpos se ligam aos eritrócitos em temperaturas entre 4° e 18°C. Para o diagnóstico, pode ser realizado o exame físico, além de exames laboratoriais, como hemograma, contagem de reticulócitos, dosagem de desidrogenase de lactato (LDH), bilirrubinas e haptoglobina, além da citometria de fluxo. O diagnóstico imunohematológico é feito através do Teste de Antiglobulina Direto, também chamado de Coombs Direto. Além disso, podem ser solicitados a pesquisa de aloanticorpos aderidos aos anticorpos, o *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), e o Teste direto de Polybrene (TPD). O tratamento é baseado na eliminação da causa subjacente, quando esta existir, administração de anticorpos monoclonais, fármacos imunossupressores, e esplenectomia, em alguns casos. Nesta revisão, serão abordados conceitos gerais sobre a anemia hemolítica autoimune, além do diagnóstico laboratorial e os tratamentos que podem ser realizados.

Palavras-chave: Doenças Autoimunes; Doenças Hematológicas; Técnicas de Laboratório Clínico.

¹ Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Goiânia, GO - Brasil

² Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública - Goiânia, GO - Brasil

³ Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas - Goiânia, GO - Brasil

⁴ Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina - Goiânia, GO - Brasil

Instituição:

Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - GOIÂNIA, GO - Brasil.

* Autor Correspondente:

Isadora Cristina Mendes
E-mail: isabiomedufg@gmail.com

Recebido em: 21/11/2019.

Aprovado em: 25/05/2020.

ABSTRACT

Autoimmune hemolytic anemia (AIHA) is a cytopenia in which autoantibodies that bind to antigens located on the erythrocyte membrane occur, whose dominant pathophysiological mechanism is failure to maintain self-tolerance. It can be idiopathic or happen secondary to medication use, infections, other autoimmune diseases, lymphoproliferative disorders, among others. In AIHA by warm antibodies, autoantibodies react more easily at body temperature. In AIHA by cold antibodies, autoantibodies bind to erythrocytes at temperatures between 4° and 18°C. For the diagnosis, the physical examination should be performed, as well as laboratory tests, such as blood count, reticulocyte count, lactate dehydrogenase (LDH), bilirubin and haptoglobin measurements, in addition to flow cytometry. The immunohematological diagnosis is made through the Direct Antiglobulin Test, also called the Direct Coombs. Screening for antibody-bound alloantibodies, the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), and the Polybrene Direct Test (TPD) may also be requested. Treatment is based on elimination of the underlying cause, if any, administration of monoclonal antibodies, immunosuppressive drugs, and splenectomy in some cases. This review will cover general concepts about autoimmune hemolytic anemia, as well as laboratory diagnosis and treatments that can be performed.

Keywords: Autoimmune diseases; hematologic diseases; clinical laboratory techniques.

INTRODUÇÃO

A anemia hemolítica autoimune (AIHA - *Autoimmune Hemolytic Anemia*) é uma condição clínica incomum na qual autoanticorpos se ligam à antígenos localizados na superfície eritrocitária. Estima-se que a incidência seja de 0,2 por 1.000.000 indivíduos menores de 20 anos. O pico de incidência ocorre entre os pré-escolares. A doença pode ser classificada de acordo com a temperatura de reatividade dos anticorpos (nos tipos quente, fria e mista) e de acordo com sua etiologia (primária ou secundária ao uso de medicamento, a existência de outras doenças autoimunes, a infecções, desordens linfoproliferativas, entre outros).¹

O mecanismo fisiopatológico dominante para sua ocorrência é a quebra dos mecanismos de autotolerância, tanto central quanto periférica. No primeiro, que ocorre nos órgãos linfoides centrais (medula óssea e timo), linfócitos imaturos que reconhecem autoantígenos com alta afinidade podem sofrer apoptose, edição de receptor (no caso de linfócitos B) ou se desenvolverem em linfócitos T reguladores (no caso de linfócitos T CD4⁺). Nos mecanismos de tolerância periférica, os linfócitos T maduros que reconhecem autoantígenos na periferia podem sofrer anergia, apoptose ou serem suprimidos por células T reguladoras.²

Há uma escassez de publicações nacionais atualizadas sobre o tema. Sendo assim, o objetivo desse artigo foi realizar

uma minirevisão descritiva sobre a anemia hemolítica autoimune, de forma a elucidar sua fisiopatologia, o diagnóstico laboratorial e tratamento.

METODOLOGIA

Realizou-se uma pesquisa bibliográfica através de análise detalhada de materiais publicados na literatura anteriormente, examinando tópicos sobre a anemia hemolítica, sua fisiopatologia, diagnóstico e tratamento. Foram utilizadas as bases de dados Pubmed, Google Acadêmico e SciELO. Os artigos selecionados foram publicados nos últimos 15 anos, sem restrições quanto ao idioma. As palavras-chaves utilizadas foram anemia hemolítica autoimune, diagnóstico, tratamento, citopenias autoimunes, e suas respectivas traduções na língua inglesa.

FISIOPATOLOGIA

Os autoanticorpos podem resultar na destruição das hemácias por três mecanismos: via fagocitose por macrófagos, por citotoxicidade celular dependente de anticorpo (ADCC) e ativação do sistema complemento. No primeiro, os autoanticorpos fazem a opsonização das hemácias, levando à ligação das mesmas aos macrófagos por meio de receptores para a porção Fc dos anticorpos.

Os sinais do receptor Fc ativam os macrófagos, que fazem então a fagocitose das hemácias. Na ADCC, o mecanismo é semelhante, envolvendo, no entanto, células Natural Killer (NK) e linfócitos T CD8⁺.² Geralmente, o sistema complemento não é completamente ativado, deixando produtos de degradação (complemento C3c, C3d) como traços nos glóbulos vermelhos. A destruição eritrocitária via ativação do sistema complemento ocorre devido a lise osmótica direta por ativação do complexo de ataque à membrana.¹

O isotipo do anticorpo é importante para sua significância clínica. As imunoglobulinas do isotipo IgM formam uma estrutura pentamérica sendo então muito eficientes na ativação do complemento. IgG1 e IgG3 são ativadores de complemento eficientes, enquanto IgG2 e IgA têm apenas uma capacidade fraca para ativar complemento. IgG4 não ativam o complemento.³

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS QUENTES

Com incidência estimada em 1:100.000 pessoas, nesse tipo de AIHA os autoanticorpos (em sua maioria do tipo IgG) reagem mais facilmente em temperatura corporal (37°C). É responsável por cerca de 70% a 80% de todos os casos de AHAI, que pode ocorrer em qualquer idade, sendo mais comum em mulheres adultas. Nesse caso, a destruição das hemácias ocorre por fagocitose.⁴

A AHAI por anticorpos quentes é secundária em cerca de 25% dos casos. É descrita a associação com neoplasias linfoides, lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatoide e imunodeficiências. Também pode ser secundária ao uso de medicamentos como cefalosporinas, levodopa, metildopa, penicilinas, quinidina e anti-inflamatórios não esteroidais.¹

A apresentação clínica da doença é variável. Os pacientes podem apresentar dispnéia, fadiga, palpitações, cefaleia. No exame físico podem ser encontrados variados graus de palidez e icterícia, além de um aumento do tamanho do baço.⁴

ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS FRIOS

Com prevalência estimada em 1:1.000.000 pessoas, nesse tipo de AIHA os autoanticorpos se ligam aos eritrócitos em temperaturas entre 4° e 18°C. Podem levar à aglutinação de eritrócitos na circulação sanguínea, e, ao ser ativado o sistema complemento, ocorre a hemólise.¹ Os pacientes apresentam anemia leve representada clinicamente por fraqueza e palidez. No entanto, nos meses de inverno pode haver piora da anemia com quadros de hemólise aguda, gerando hemoglobinemia, hemoglobinúria e icterícia.⁴ A aglutinação das hemácias decorrente da exposição ao frio pode ocasionar acrocianose nos dedos, orelhas e nariz.^{2,4}

A AIHA por anticorpos frios pode ser subdividida em doença das aglutininas frias (crioaglutininas) e hemoglobinúria paroxística a frio (HPF). Na primeira, os autoanticorpos frios mostram uma ligação ótima com as hemácias abaixo de 30°C e são principalmente de isotipo IgM. Estes são clinicamente relevantes, uma vez que pode induzir a ativação do complemento *in vivo*. Esses anticorpos, nesse caso, são usualmente produzidos em resposta a infecções (pneumonia por germe atípico, geralmente *Mycoplasma pneumoniae*, e infecções virais como mononucleose infecciosa, causada pelo vírus Epstein-Barr) ou a doenças linfoproliferativas.¹

A HPF é um subtipo raro de AIHA, descrita inicialmente como manifestação da sífilis terciária. Com a diminuição dos casos de sífilis, os casos relatados nos últimos anos estão associados a infecções virais, principalmente em crianças. O autoanticorpo formado é bifásico, chamado de hemolisina de Donath-Landsteiner, e tem especificidade para o antígeno P do grupo sanguíneo. Autoanticorpos bifásicos são IgG que mostram ligação ótima abaixo de 30°C e induzem a ativação do complemento a 37 °C. Esse diferencial térmico ocorre quando há perifericamente uma exposição ao frio, com posterior retorno do sangue à circulação central.⁵ Em termos clínicos, a HPF caracteriza -se por hemólise intravascular de início súbito, com anemia e hemoglobinúria, minutos ou horas após exposição ao frio. Os anticorpos geralmente surgem cerca de uma semana após o início das infecções e persistem por 1 a 3 meses.⁶

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da AHAI baseia-se na análise em conjunto da história clínica e dos resultados de exames laboratoriais. Diante da suspeita de AHAI inicia-se a investigação diagnóstica que envolve procedimentos para diferenciar a anemia em imune ou não imune, identificar o tipo de anticorpo envolvido e diferenciar a anemia hemolítica em primária ou secundária.⁴

O hemograma revela anemia moderada ou grave (hemoglobina entre 6 e 10 g/dL), citopenia, macrocitose ou normocitose, microcrocitose, esquizócitos, poiquilocitose, policromasia, anisocitose e presença de eritroblastos. Pode haver leucocitose e a série plaquetária encontrar-se normal, bem como pode estar aumentada ou reduzida (síndrome de Evans).^{3,4} A contagem de reticulócitos encontra-se elevada, porém no início do processo pode estar normal. São observados também elevação das concentrações da desidrogenase de lactato (LDH) e hiperbilirrubinemia indireta, além de haptoglobulina diminuída ou indetectável, devido à saturação da hemoglobina e a eliminação rápida dos complexos haptoglobina-globina pelo sistema retículo-endotelial.^{2,4,7}

O diagnóstico imunohematológico é feito através do Teste de Antiglobulina Direto (TAD), também chamado de Coombs direto, que detecta a presença de autoanticorpos ou fração do complemento, aderidos na superfície nas hemácias do paciente "in-vivo".^{2,3,4,8} A antiglobulina sérica (soro de coombs) é adicionada às hemácias previamente lavadas; a aglutinação indica a presença de imunoglobulina ou complemento ligado às hemácias. Os anticorpos da classe IgG estão presentes na AHAI quentes e C3 (C3b e C3d) na AHAI a frio, o que sugere a presença de anticorpos da classe IgM.^{8,9} O teste é considerado "padrão ouro" no diagnóstico das AHAI.^{1,10} Cerca de 80% dos pacientes com AHAI possuem anticorpos livres no soro que podem ser detectados pelo teste da antiglobulina indireto (TAI) ou teste de Coombs indireto.¹¹

Em caso de hemólise intravascular pode ocorrer hemoglobinúria devido à eliminação da hemoglobina pelo rim, com a urina então adquirindo coloração acastanhada.^{2,9} Um aumento do urobilinogênio também pode ser observado no exame de urina.⁷ Além disso, pode haver hemossiderinúria, persistindo em torno de uma semana após a sua detecção.^{2,7,9}

A citometria de fluxo (CF) é uma técnica que também pode ser empregada no diagnóstico de AHAI. Permite a identificação de antígenos fixados na superfície de células ou partículas, suspensas em meio líquido, quando tratadas com anticorpos monoclonais marcados com fluorocromo. Trata-se uma metodologia com elevada precisão e reprodutibilidade.^{10,12}

Na HPE, o TAD é quase sempre negativo, bem como o TAI. O teste de Donath-Landsteiner é utilizado para diferenciar esse subtipo de AIHA a frio, sendo positivo apenas quando ocorre elevados títulos de anticorpos no soro.¹² O teste consiste na visualização de hemólise de eritrócitos, normais e do doente, suspensos em plasma do doente em vários tubos submetidos a perfis térmicos diferentes. A hemólise é observável nos tubos previamente incubados a 4°C com posterior aquecimento a 37°C.⁵

O teste de eluição pode ser realizado para determinar a especificidade do anticorpo, mas não é essencial para o diagnóstico, pois em muitos casos não é possível identificar um anticorpo específico.^{11,12} Também podem ser solicitadas a pesquisa de aloanticorpos aderidos aos anticorpos, o *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e o Teste direto de Polybrene (TPD).¹³

TRATAMENTO PARA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS QUENTES

Existem algumas terapias recomendadas como o uso de corticosteroides, como a prednisolona, e imunossuppressores, como azatioprina, ciclofosfamida, clorambucil, ciclosporina e micofenolato de mofetil, além da realização da esplenectomia. Essa última apresenta boa resposta diante de casos de má resposta aos medicamentos ou quando não se mantém níveis aceitáveis de hemoglobina associado a doses aceitavelmente baixas de esteroides. Outros aspectos terapêuticos se baseiam na eliminação de causas subjacentes.^{7,11}

A boa resposta aos corticosteroides é baseada na predominância de imunoglobulinas IgG na superfície das hemácias, sendo que casos com presença de complemento apresentam má resposta aos fármacos imunossuppressores e a esplenectomia. Transfusões sanguíneas podem ser necessárias em casos de quadros de anemia hemolítica grave associada a sintomatologia, sendo fundamental que esse processo aconteça de forma menos incompatível possível, a fim de evitar a formação de aloanticorpos.⁷

É importante levar em consideração que tratamentos simples combinados a terapêuticas mais rigorosas em condições agudas podem auxiliar na regeneração medular, sendo relevante o uso de vitamina B12 e vitamina C. A suplementação com folato (vitamina B9) e ferro também favorece melhoras nos quadros de agudização.¹³

TRATAMENTO PARA ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE POR ANTICORPOS FRIOS

O tratamento para esta doença consiste em proteger o paciente do frio, sendo altamente recomendada a proteção das extremidades (cabeça, pés e mãos).¹⁴ As modalidades terapêuticas neste quadro são medicamentos imunossuppressores ou citotóxicos, que primariamente apresentam baixas taxas de resposta terapêutica. Plasmáfereze, corticosteroides e esplenectomia não apresentam efetividade no quadro.¹²

TRATAMENTO PARA HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA A FRIO (HPF)

A terapêutica adotada para a HPF associa elementos do tratamento dos dois tipos de anemias hemolíticas autoimunes, por anticorpos quentes e frios. A produção de anticorpos do tipo IgG é dependente do mecanismo básico de efetividade do sistema imunológico, sendo a prednisona o tratamento de primeira linha e de escolha. Algumas características importantes da terapêutica neste quadro consistem na proteção do paciente contra o frio e, em situações de hemólise persistente e hemoglobina abaixo de 10 g/dL, administração da ciclofosfamida.^{12,15}

Como o quadro está associado a produção de anticorpos do tipo IgG e a hemólise é intravascular, a esplenectomia não apresenta nenhum tipo de melhora no quadro do paciente, uma vez que as hemácias serão hemolisadas pelo fígado.¹²

A tabela 1 reúne as informações referentes aos medicamentos que podem ser utilizados no tratamento da AIHA, bem como a posologia recomendada.

Tabela 1. Fármacos imunossuppressores utilizados no tratamento das anemias hemolíticas autoimunes.¹²

Fármaco	Posologia
Prednisona	Comprimidos de 5 mg e 20 mg
Metilprednisolona	Ampola de 500 mg
Ciclofosfamida	Frasco-ampola de 200 e 1.000 mg ou drágeas de 50 mg.
Ciclosporina	Cápsula de 10, 25, 50 e 100 mg e solução oral com 100 mg/mL em frasco de 50 mL.
Imunoglobulina humana	Frasco com 0,5, 1, 2,5, 3, 5 e 6 g.
Ácido fólico	Comprimido de 5 mg.

DISCUSSÃO

A AHAI é caracterizada pela hemólise precoce das hemácias devido à fixação de autoanticorpos e/ou complemento na superfície das mesmas ocasionando sua destruição via sistema complemento ou sistema reticuloendotelial.^{4,10} Apesar da baixa incidência, as AHAI são responsáveis por alta morbimortalidade entre os acometidos.

Para a elucidação da suspeita clínica são solicitados os exames laboratoriais, tais como hemograma completo, contagem de reticulócitos, dosagem de bilirrubinas, lipoproteínas de densidade baixa (Low Density Lipoprotein - LDL), haptoglobina, TAD e citometria de fluxo, quando disponível. Níveis normais de LDL não excluem a presença de hemólise, que é comprovada pelo aumento de reticulócitos e LDH, além de redução dos níveis séricos de haptoglobina.^{2,12} Para o diagnóstico de hemólise, pelo menos um desses testes deve estar alterado, sendo a haptoglobina o mais sensível.³ A ausência de reticulocitose não exclui o diagnóstico de AHAI, mas é um preditor de mau prognóstico. Os valores de LDH são bons marcadores para avaliar a gravidade da hemólise e podem ser usados para monitorar a resposta ao tratamento.¹²

O TAD positivo é patognômico de AHAI e ocorre em torno de 90% dos casos.^{4,7} Resultados negativos do TAD podem ocorrer devido a um anticorpo de baixa afinidade, baixos níveis de anticorpo ligado às hemácias ou uma imunoglobulina não testada (IgA, por exemplo).⁹ Como o reagente poliespecífico antiglobulina humana não contém anti-IgA, é importante repetir o TAD com anti-IgG, anti-IgA, anti-IgM, anti-C3c e anti-C3d para confirmar se realmente é negativo. Se o TAD permanecer negativo, a pesquisa de microesferócitos no esfregaço sanguíneo pode ser útil na confirmação do diagnóstico de AIHA sem anticorpos detectáveis.² A CF é importante no caso de TAD negativo e detecta hemácias revestidas de autoanticorpos ou complemento.^{2,4} Alguns autores contraindicam a realização do Coombs indireto na avaliação de uma AHAI devido à hemólise acentuada favorecer o esgotamento dos receptores de eritrócitos.⁶ Porém o teste é recomendado por outros autores.^{1,2,12}

O tratamento para AHAI tem como objetivo reduzir a produção de anticorpos e, conseqüentemente a intensidade da hemólise, o que favorece melhora nos níveis de hemoglobina e dos sintomas.^{3,16} Nos casos de AHAI secundária, é necessário tratar a causa primária, seja pela suspensão de fármacos que possam estar desencadeando o processo, seja pelo tratamento de doenças linfoproliferativas, infecciosas ou autoimunes associadas. A correta identificação do tipo de AHAI é fundamental, já que o tratamento e o curso da doença são distintos.¹⁶ Nas primeiras semanas após o início do tratamento, é desejável monitorar o reestabelecimento dos níveis de hemoglobina e a contagem dos reticulócitos. O monitoramento do TAD é rotineiro, mesmo que permaneça com resultado positivo.¹⁷

De acordo com o Colégio Americano de Reumatologia, os pacientes submetidos a corticoterapia devem tomar vitamina D, cálcio e bisfosfonatos¹⁶, bem como devem fazer suplementação com ácido fólico para favorecer o aumento da eritropoiese. A deficiência do ácido fólico pode levar à crise megaloblástica.^{12,16}

A hemotransfusão de concentrado de hemácias é indicada nos casos de anemia intensa, mas deve ser considerada com cuidado e em combinação com outros tratamentos principalmente nos casos de AIHA com complemento isolado, pois os glóbulos vermelhos transfundidos são extremamente frágeis devido à hemólise ativa.¹ Além disso, os anticorpos aderidos na membrana das hemácias podem interferir nos resultados dos exames imunohematológicos e pré-transfusionais. Isso gera dificuldades de se encontrar concentrado de hemácias compatíveis para o paciente, sendo necessário o uso de testes de compatibilidade em hemoterapia para minimizar os riscos de reações transfusionais.^{1,11} Nesse contexto, o requisito mínimo é que o hemocomponente a se transfundir seja compatível com os antígenos Kell e Rhesus.¹² Para aumentar a segurança transfusional, também é importante utilizar hemácias fenotipadas compatíveis com o fenótipo do paciente.¹⁷

A AHAI é uma doença rara e há, até o presente momento, poucos estudos epidemiológicos disponíveis com dados sobre a prevalência ou incidência nacionais ou internacionais. Além disso, há uma escassez de estudos já realizados sobre o curso e o tratamento da doença no Brasil e no mundo. Um estudo realizado em Belo Horizonte entre crianças com idade inferior a 15 anos diagnosticadas com AHAI revelou TAD positivo em 86,6% pacientes, sendo que o anticorpo da classe IgG foi mais frequente, seguida pela IgM.

A anemia grave foi detectada em 76% dos pacientes, sendo necessário a hemotransfusão. Em 26,6% dos pacientes, foi identificada uma doença de base: lúpus eritematoso sistêmico, linfoma de Hodgkin, hepatite autoimune e histiocitose de células de Langerhans. Os demais casos foram considerados como primários. Ocorreram três óbitos, sendo dois após esplenectomia e um pela doença de base.¹⁸

CONCLUSÃO

As AHAI são raras, mas graves, com morbimortalidade considerável entre os acometidos, merecendo atenção para o diagnóstico e tratamento precoces. O hemograma, a contagem de reticulócitos e as análises bioquímicas são de grande valia no diagnóstico das AHAI. O exame de coombs direto é o padrão-ouro no diagnóstico das AHAI. O emprego de outras técnicas, especialmente a citometria de fluxo são importantes quando o coombs direto for negativo.

Para o tratamento de uma AHAI é importante determinar a temperatura de reatividade dos anticorpos. Se destaca a importância do diagnóstico de doenças associadas, uma vez que o pior prognóstico ocorre na presença de alguma doença de base e seu manejo pode refletir na terapia das AIHA.

As opções usuais para o tratamento da AIHA a quente com corticóides com ou sem esplenectomia podem ser consideradas uma prática padrão e são muito úteis na maioria dos casos. Já na HPF a esplenectomia não representa uma opção de tratamento efetiva.

Destaca-se a importância no desenvolvimento de mais estudos sobre as AHAI, pois até o presente momento não há estudos epidemiológicos e nem de tratamento, o que reflete em poucas informações a respeito da incidência e prevalência da doença. Os poucos estudos existentes são do tipo relato de caso.

REFERÊNCIAS

1. Zulfiqar AA, Mahdi R, Mourot-Cottet R, Pennaforte JL, Novella JL, et al. Autoimmune Hemolytic Anemia - A Short Review of the Literature, with a Focus on Elderly Patients. *J Hematol Thrombo* 2015; 3(6):1-5.
2. Zeerleder S. Autoimmune haemolytic anaemia – a practical guide to cope with a diagnostic and therapeutic challenge. *The Netherlands Journal of Medicine* 2011; 69(4):177-183.
3. Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da Anemia Hemolítica Autoimune. Portaria SAS/MS nº 1.308, de 22 de novembro de 2013.
4. Lima AF. Anemia hemolítica autoimune e o diagnóstico laboratorial: uma revisão literatura. Recife. Monografia [Pós-Graduação Lato Sensu em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial] - Instituto Nacional de Ensino Superior e Pesquisa (INESP); 2015.
5. Matos C et al. Hemoglobínúria paroxística ao frio: quando suspeitar? *Nascer e Crescer* 2012; 21(3): 135-137.
6. Martins SDC. Anemias hemolíticas: clínica, diagnóstico e terapêutica – uma revisão crítica - Artigo de revisão. [Dissertação de Mestrado] - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, 2014.
7. Hoffbrand, AV; Moss PAH. Fundamentos em hematologia. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. Imunohematologia laboratorial / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
9. Hill QA; Stamps R; Massey E; Grainger JD; Provan D; Hill A. The diagnosis and management of primary autoimmune haemolytic anaemia - Guideline. *British Journal of Haematology* 2017; 176(1): 395–411.
10. Boldrin NF; Silva JO. Qualidade analítica dos testes laboratoriais atualmente propostos para o diagnóstico e acompanhamento de anemia hemolítica auto-imune. In: 10ª Mostra Acadêmica UNIMEP; 2012 out. 23-25; Taquaral, São Paulo, Brasil.
11. Alves AL; Silva AN, Ferreira ECIPM. Anemia Hemolítica Auto-imune. *Revista da UNILUS de Ensino e Pesquisa* 2016; 13(30): 1-5.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas da Anemia Hemolítica Autoimune. Portaria Conjunta SAS/SCTIE/MS nº 27, de 26 de novembro de 2018.
13. Andrès E., Serraj K. Anémies macrocytaires carentielles de l'adulte et du sujet âgé. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Hématologie 2011;13(1):1-10.
14. Berentsen S, Tjønnfjord GE. Diagnosis and treatment of cold agglutinin mediated autoimmune hemolytic anemia. *Blood Rev.* 2012;26(3):107-15.
15. Gertz MA. Management of cold haemolytic syndrome. *Br J Haematol.* 2007;138(4):422-9.
16. CONITEC - Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas - Anemia Hemolítica Autoimune. Ministério da Saúde, 2018.
17. Go RS, Winters J L, Kay NE. How I treat autoimmune hemolytic anemia. *Blood.* 2017; 129(22):2971-2979.
18. Oliveira MCLA, Oliveira BM, Murao M, Vieira ZM, Gresta LT ,Viana MB. Curso clínico da anemia hemolítica auto-imune: um estudo descritivo. *Jornal de Pediatria* 2006; 82(1), 58-62.