



ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA EM CÃO – RELATO DE CASO

Rafaele Cristine Pinheiro¹; Thabata Bortolato Laccort²; Sandra Vogel Seixas³

Resumo

A anemia hemolítica imunomediada é um distúrbio imunológico resultante da destruição acelerada dos eritrócitos. Ocorre em maior prevalência em cães fêmeas com idade média de seis anos. Os sinais clínicos são variáveis e podem incluir apatia, anorexia, febre, mucosas hipocoradas, dispneia e taquicardia, contudo, algumas manifestações são específicas à hemólise, como esplenomegalia, icterícia, hemoglobinúria ou bilirrubinúria. Não existem achados patognomônicos ou teste padrão ouro para diagnóstico, dessa forma, faz-se necessário a associação de sinais clínicos, achados laboratoriais e testes imunológicos. O tratamento citado na literatura, baseia-se na utilização de glicocorticóides, associado ou não a outros imunossuppressores e, conforme a necessidade, emprega-se também o tratamento de suporte, através de transfusão sanguínea, fluidoterapia e antibioticoterapia. Devido aos riscos de distúrbios homeostáticos, tal como tromboembolismo e coagulação intravascular disseminada, o prognóstico apresenta-se reservado na maioria dos casos. No presente relato é discutido o caso de uma paciente canina, sem raça definida com 9 anos que se apresentava apática e com urina de coloração escurecida. Em exames complementares foram observadas alterações sugestivas de anemia hemolítica como presença de anemia macrocítica hipocrômica, hemoglobinemia, hemoglobinúria, esferócitos e eritrócitos fantasmas. A paciente precisou ficar internada para terapia com corticoide e tratamento de suporte, após isso recuperou-se bem e recebeu alta.

Palavras-chave: Esferócitos. Hemoglobinúria. Icterícia.

Introdução

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é um distúrbio imunológico que consiste na destruição patológica de eritrócitos, sendo mais comum em cães do que em gatos (Gorenstein et al., 2019). Como consequência desta enfermidade, há diminuição de hemácias, da concentração de hemoglobina e do hematócrito (Thrall, 2015).

Esta doença pode ocorrer de maneira primária, quando não há identificação de uma causa subjacente, ou secundária decorrente de diversos eventos, como neoplasias, agentes infecciosos, fármacos, transfusões sanguíneas, dentre outros (Castilho et al., 2016).

Os sinais clínicos são variáveis e incluem letargia, apatia, palidez de mucosas, intolerância a exercícios, taquipneia e/ou dispneia, esplenomegalia, febre, icterícia e hemoglobinúria (Nelson e Couto, 2015). Como alterações laboratoriais, geralmente são encontradas: aglutinação das hemácias, esferócitos, aumento de volume corpuscular médio (VCM), falso aumento de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), além de alterações nas análises bioquímicas dos marcadores renais e hepáticos (Thrall, 2015).

O diagnóstico consiste na associação de sinais clínicos, achados em exames laboratoriais e testes imunológicos como o teste de *Coombs*, citometria de fluxo e teste de aglutinação salina. No entanto, não há um padrão ouro para diagnosticar a AHIM (Garden et al., 2019).

1 Aprimoranda em Patologia Clínica Veterinária – UTP (rafaaele.cris@gmail.com)

2 Médica Veterinária

3 Preceptora e orientadora do setor de Patologia Clínica Veterinária – UTP



Como trata-se de um distúrbio imunológico, o tratamento consiste na administração de fármacos imunossupressores que diminuem a destruição de eritrócitos por meio da inibição da fagocitose e da produção de imunoglobulinas (Gorenstein et al., 2019). Conforme a necessidade, realiza-se também o tratamento de suporte através de transfusões sanguíneas, fluidoterapia e antibioticoterapia (Swann et al., 2019).

O objetivo do presente artigo é revisar a temática e relatar um caso de anemia hemolítica imunomediada em cão.

Anemia Hemolítica Imunomediada

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é a consequência da destruição prematura de eritrócitos (Gorenstein et al., 2019) resultante da ação de imunoglobulinas contra estes ou da adesão de complexos imunes a eles (Silva et al., 2008). Trata-se do distúrbio imunológico de maior prevalência em cães (Gorenstein et al., 2019).

A AHIM pode ocorrer em qualquer raça de cães, segundo Leite et al. (2011), as raças mais acometidas são Cocker Spaniel, Poodle e Sheepdog, já Thrall (2015), cita a raça Collie entre as mais acometidas. Ainda, segundo Thrall (2015) e Nelson e Couto (2015), a prevalência da AHIM é ligeiramente maior em fêmeas, podendo haver influência hormonal. A manifestação clínica pode ocorrer em animais de 1 a 13 anos, no entanto, a média é de seis anos (Andrade et al., 2010; Gorenstein et al., 2019).

Com relação a classificação, a AHIM pode ser primária (não associativa) ou secundária (associativa) (Balch e Mackin, 2007; Thrall, 2015; Castilho et al., 2016; Garden et al., 2019). O termo “associativo” utiliza-se quando uma comorbidade for identificada. Os casos de AHIM “não associativas” são aquelas em que enfermidades não são identificadas na avaliação diagnóstica e incluem casos primários (“idiopáticos”) e criptogênicos. Este último implica que uma causa subjacente não foi identificada, talvez porque os patomecanismos não são atualmente compreendidos, ou a comorbidade não pode ser detectada usando os testes disponíveis (Garden et al., 2019).

Certas enfermidades resultam no aumento da taxa de destruição de eritrócitos, ocasionando queda de sua meia-vida na circulação sanguínea, que fisiologicamente é de aproximadamente 100 a 120 dias em cães (Balch e Mackin, 2007; Baggio, 2019). O mesmo processo ocorre quando há anticorpos aderidos à membrana celular dos eritrócitos (Balch e Mackin, 2007).

Na AHIM, a remoção se faz precocemente e patologicamente, por meio de uma reação imunológica tipo II. Essa destruição ocorre de forma direta ou por meio da fagocitose de hemácias opsonizadas por imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA) ou sistema complemento ou ambos. Esse processo pode acarretar hemólise intravascular ou extravascular, entretanto, a hemólise extravascular é predominante (Gorenstein et al., 2019).

Ocorre hemólise intravascular quando a cascata de ativação do sistema complemento é ativada completamente, geralmente mediado pela IgM, através do influxo de fluídos extracelulares



para o eritrócito, ocasionando a ruptura da célula quando ela ainda está na circulação sanguínea. Esse processo resulta na liberação de hemoglobina livre no sangue (hemoglobinemia) e, conseqüentemente, presença de hemoglobina livre na urina (hemoglobinúria) (Balch e Mackin, 2007; Baggio, 2019; Gorenstein et al., 2019).

A hemólise extravascular é dependente dos fagócitos do sistema monocítico fagocitário presente no baço, no fígado e na medula óssea, capazes de retirar da circulação as hemácias revestidas por anticorpos (IgG, IgA) e pelo sistema complemento (Baggio, 2019). Esse processo resulta na hiperbilirrubinemia e é considerado o quadro hemolítico mais comuns em cães, brandos e de melhor prognóstico (Gorenstein et al., 2019).

Além disso, pode ocorrer alterações na morfologia dos eritrócitos bem como na ocorrência da eritrofagocitose parcial por macrófagos, que resulta na formação de esferócitos. Estes possuem aparência pequena, formato esférico, sem a palidez central e parecem densos. Além de possuírem meia-vida mais curta pois não são tão deformáveis quanto os eritrócitos em forma de discos bicôncavos normais (Thrall, 2015). Os esferócitos também podem ser considerados como critério de diagnóstico de destruição imunomediada de eritrócitos quando presentes (Ramos e Leite, 2017; Garden et al., 2019).

Outra alteração ocorre quando há fixação de complemento, resultando em dano à membrana dos eritrócitos devido aos complexos formados, culminando na destruição intravascular. Nesse caso, ocasionalmente, são constatados eritrócitos “fantasmas” no esfregaço sanguíneo (Thrall, 2015; Garden et al., 2019).

Os sinais da AHIM são variáveis e muitas vezes incluem letargia, esplenomegalia, febre e icterícia. Também pode-se observar sinais gerais associados à anemia como palidez de mucosas, intolerância a exercícios, taquipneia e/ou dispneia, taquicardia e sopros sistólicos induzidos pelo aumento da turbulência do sangue (Thrall, 2015). Como sinais clínicos específicos associados à hemólise pode-se incluir, segundo Thrall (2015), esplenomegalia, icterícia e urina escurecida devido a hemoglobinúria.

Nelson e Couto (2015), relatam que os achados no exame clínico geralmente consistem em mucosas hipocoradas ou ictericas, petéquias e equimoses, se houver trombocitopenia imune associada, esplenomegalia e sopro cardíaco. Os autores ressaltam ainda, que a icterícia pode estar ausente em cães com AHIM. No entanto, cães com anemia hemolítica imunomediada aguda com essa alteração, e geralmente autoaglutinação, apresenta piora na condição clínica em algumas horas ou dias da internação por causa da doença tromboembólica multifocal ou da ausência de resposta à terapia convencional.

Os achados laboratoriais são variáveis, porém podem incluir diminuição da contagem de eritrócitos, da concentração de hemoglobina e aglutinação (Thrall, 2015). Além de leucocitose por neutrofilia com desvio à esquerda e monocitose, número aumentado de hemácias nucleadas, policromasia e esferócitos. A concentração de proteínas séricas (ou plasmáticas) está geralmente normal ou aumentada (Nelson e Couto, 2015).



Quando há hemólise intravascular, pode haver hemoglobinemias e hemoglobinúrias. Já em casos de hemólise extravascular ocorre hiperbilirrubinemia e bilirrubinúria. Além disso, o teor de hemoglobina pode estar falsamente aumentado em relação ao volume globular, com falso aumento do CHCM (Thrall, 2015).

A aglutinação pode ser diferenciada da formação de rouleaux mediante a mistura de pequena quantidade de sangue com uma gota de solução salina isotônica; a aglutinação persistirá na presença de solução salina, enquanto a formação de rouleaux irá dispersar. Esta alteração pode ser tão acentuada que é possível visualizá-la macroscopicamente no esfregaço sanguíneo ou na parede do tubo coletor com EDTA. Se a aglutinação estiver presente, o VCM pode estar falsamente aumentado, pois os eritrócitos aglutinados podem ser contados como células grandes (Thrall, 2015).

A resposta leucocitária é inflamatória, com neutrofilia, aumento da população de bastonetes e monocitose. Acredita-se que essa resposta inflamatória decorra da liberação de fatores estimuladores de colônias pelos macrófagos ativados. Recentemente, correlacionou-se o grau de neutrofilia, bem como o aumento de neutrófilos imaturos e a extensão da lesão tecidual secundária, à hipóxia e à doença tromboembólica (Thrall, 2015; Ramos e Leite, 2017).

A hemoglobinemias podem ser detectadas por exame visual do plasma ou medição da hemoglobina livre nas células. No entanto, esta só deve ser interpretada como evidência de hemólise após eliminação da hemólise artefactual: punção venosa traumática, congelamento e armazenamento. A probabilidade de hemólise *in vitro* é aumentada se fatores que aumentam a fragilidade dos eritrócitos estão presentes, como por exemplo, lipemia (Garden et al., 2019).

A hemoglobinúria é considerada presente se a urina apresentar a coloração vermelha e a descoloração não for eliminada por centrifugação, ou se uma reação heme positiva na fita reagente de urina estiver presente na ausência de eritrócitos intactos no exame microscópico dos sedimentos urinários (Garden et al., 2019).

Com relação às plaquetas, em geral, poderão estar diminuídas, sendo visualizada em 70% dos casos (Brandão et al., 2004). Isto ocorre devido à destruição imunomediada concomitante ou ainda, à ação secundária a processos de consumo como a septicemia ou a coagulação intravascular disseminada (CID) (Brandão et al., 2004; Thrall, 2015; Ramos e Leite, 2017).

Como a ocorrência de CID está comumente associada à AHIM, outros testes laboratoriais que podem estar alterados são aqueles utilizados para avaliar a atividade de coagulação. Sendo assim, é possível notar prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), que é usada para monitorar as vias intrínseca e comum; prolongamento do tempo de protrombina (TP), que avalia as vias extrínseca e comum; menor atividade antitrombina, aumento do teor de produtos da degradação de fibrina/fibrinogênio e aumento da concentração do dímero D (Dalmolin et al., 2015; Thrall, 2015).

Pode haver azotemia pré-renal devido a desidratação apresentada pelo paciente, e, no caso de hemólise intravascular grave, azotemia renal. A insuficiência renal aguda pode ser causada pela deposição de imunocomplexos na membrana eritrocitária ou pelo efeito tóxico direto da hemoglobina livre nas células dos túbulos renais (Thrall, 2015; Ramos e Leite, 2017; Gorenstein et al. 2019).



Não existe um padrão ouro de diagnóstico (Garden et al., 2019) ou achados patognomônicos para a AHIM, o diagnóstico é realizado a partir da exclusão de outras causas para anemia.

Conforme Leite et al. (2011) e Gorenstein et al. (2019), hematócrito inferior a 25%, evidências de hemólise (hemoglobinemia, hemoglobinúria, hiperbilirrubinemia ou bilirrubinúria), reticulocitose, autoaglutinação, esferocitose, teste de *Coombs* positivo, além da eliminação de outras causas de base e uma resposta apropriada a terapia imunossupressora sugerem o diagnóstico de AHIM primária.

Em pacientes com hemólise, Garden et al. (2019) recomendam o teste de antiglobulina direto, também conhecido como teste de *Coombs*, no entanto, este não apresenta especificidade ou sensibilidade para AHIM. Conforme Thrall (2015), ocorre a detecção de presença de anticorpos, através da adição de antiglobulina espécie- específica a uma suspensão de eritrócitos lavada em solução salina. Uma vez que os eritrócitos estejam recobertos com anticorpos, ocorrerá aglutinação. Sendo assim, quando há aglutinação na amostra, o teste não é indicado pois pode apresentar um resultado falsamente negativo, presumivelmente porque o anticorpo IgM é eluído dos eritrócitos durante o processo de lavagem.

Outra forma para um possível diagnóstico é a citometria de fluxo, a qual também avalia a presença de anticorpos aderidos a eritrócitos, permitindo detecção de baixos níveis de imunoglobulinas quando comparado ao método Coombs (Gorenstein et al., 2019). Trata-se de uma maior sensibilidade, porém menor especificidade, quando comparada ao teste de *Coombs* (Thrall, 2015). Pode ser utilizada para determinar a classe de anticorpos presentes e gerar um resultado mais quantitativo, permitindo potencialmente o monitoramento do sucesso terapêutico (Garden et al., 2019).

O tratamento para a AHIM é baseado no emprego de glicocorticóides e requer longos períodos de terapia. Além de ser necessário, em alguns casos, transfusões sanguíneas, fluidoterapia e antibioticoterapia como tratamento suporte. Em casos mais graves, recomenda-se o uso de imunoglobulina intravenosa (Gorenstein et al., 2019).

Os glicocorticóides como a prednisona/prednisolona e a dexametasona são os fármacos de predileção. Eles atuam principalmente por três diferentes mecanismos: suprimem a atividade do sistema monocítico fagocitário, reduzem a ligação do sistema complemento e dos anticorpos e suprimem a produção de imunoglobulinas. Ou seja, diminuem a destruição de eritrócitos por meio da inibição da fagocitose e da produção de imunoglobulinas (Gorenstein et al., 2019).

Além dos glicocorticoides, azatioprina, ciclosporina, leflunomida e micofenolato de mofetila são os imunossupressores mais utilizados (Swann et al., 2019). No entanto, alguns pacientes respondem ao tratamento sem necessitar associações imunossupressoras (Gorenstein et al., 2019). Thrall (2015) ressalta que alguns medicamentos imunossupressores, podem prejudicar a ação medular, resultando em perda transitória da resposta regenerativa. Além disso, alguns fármacos podem não ser efetivamente metabolizados em animais com anemia grave, tornando-os mais tóxicos do que o usual.



Swann, et al. (2019), recomendam avaliação constante do paciente para qualquer redução de dose de prednisona ou prednisolona a fim de garantir uma resposta contínua ao tratamento. Dessa forma, recomenda-se a diminuição de 25% da dose do fármaco, a cada três semanas, se o hematócrito tenha se mantido estável e acima de 30% por duas semanas após o início do tratamento, com melhora na maioria das medidas da atividade da doença (incluindo esferocitose, aglutinação, concentração de bilirrubina sérica e contagem de reticulócitos).

O prognóstico da AHIM é reservado na maioria dos casos (Ramos e Leite, 2017; Gorenstein et al., 2019). Alterações laboratoriais como anemia com ausência de regeneração, leucocitose e trombocitopenia intensa, autoaglutinação, icterícia, hiperbilirrubinemia, alterações hemostáticas e hemólise intravascular acarretam um prognóstico desfavorável (Ramos e Leite, 2017).

O índice de mortalidade varia entre 25 e 50% (Thrall, 2015) podendo chegar aos 70% (Gorenstein et al., 2019). Anormalidades de coagulação, principalmente coagulação intravascular disseminada (CID) e estado de hipercoagulabilidade, estão relacionados a causa de óbito em AHIM primárias (Castilho et al., 2016; Gorenstein et al., 2019).

Relato de Caso

Foi conduzida ao hospital veterinário (HV), uma paciente da espécie canina, fêmea, castrada, com 9 anos de idade, sem raça definida, pesando 25,1 kg. Durante a consulta, tutora relatou que já havia procurado atendimento em outra clínica veterinária, devido o animal encontrar-se apático, o que não era comum, e com abdômen abaulado, a suspeita principal foi esteatose hepática, sendo administrado um protetor hepático por via subcutânea, o qual a tutora não soube informar o nome do medicamento e dipirona devido a hipertermia apresentada pelo animal. Sem a melhora do quadro clínico e com a urina de coloração escurecida a tutora procurou um novo atendimento, o que fez ela ser conduzida ao HV.

Em exame físico, foram observadas mucosas levemente ictéricas, abdômen abaulado e sobrepeso. Demais parâmetros físicos encontravam-se dentro da normalidade para a espécie.

Como exames complementares, foram solicitados hemograma e bioquímicos: ALT, FA, albumina, creatinina, ureia, triglicerídeos, colesterol, glicose e proteína e frações (os resultados estão demonstrados nas tabelas 1 e 2); pesquisa de hemoparasitos em ponta de orelha; urinálise; ultrassom abdominal e sorologia para leptospirose.

Tabela 1. Hemograma realizado na paciente da espécie canina, fêmea, castrada, com 9 anos de idade, sem raça definida, pesando 25,1 kg, no dia do atendimento no hospital veterinário em Curitiba/PR.

HEMOGRAMA	Resultado	Intervalo de Referência
Eritrograma		
Hemácias (milhões/mm ³)	3,54	5,5 - 8,5
Hematócrito (%)	27	37 - 55
Hemoglobina (g/dL)	10,2	12,0 - 18,0



VCM (fL)	77,14	60 – 77
CHCM (%)	37,77	31 – 36
Metarrubróцитos	10	/ 100 leucócitos
Proteína plasmática (g/dL)	7,6	6,0 - 8,0
Observações da série vermelha	Moderada anisocitose e policromasia. Raros corpúsculos de Howell-Jolly. Plasma intensamente hemolisado.	
Leucograma		
Leucócitos totais (/mm ³)	31.200	6.000 - 17.000
Neutrófilos segmentados (/mm ³)	25.792	3.000 - 11.000
Neutrófilos bastonetes (/mm ³)	2.704	0 – 300
Metamielócitos (/mm ³)	0	0 – 300
Linfócitos (/mm ³)	1.872	1.000 - 4.800
Monócitos (/mm ³)	728	0 - 1.350
Eosinófilos (/mm ³)	104	100 - 1.250
Basófilos (/mm ³)	0	Raros
Observações da série branca	Raros neutrófilos tóxicos (basofilia citoplasmática). Raros monócitos com hemossiderina intracitoplasmática.	
Plaquetas		
Plaquetas (mil/mm ³)	109,5	200 – 500

Em eritrograma observou-se anemia macrocítica “hipercrômica” e presença de metarrubróцитos. Nas observações da série vermelha houve moderada anisocitose e policromasia e raros corpúsculos de *Howell-Jolly*.

No leucograma, observou-se leucocitose por neutrofilia e desvio nuclear de neutrófilos à esquerda classificado como regenerativo. Em observações da série branca houve a presença de raros neutrófilos tóxicos com basofilia citoplasmática e raros monócitos com hemossiderina intracitoplasmática. Por fim, com relação as plaquetas, observou-se trombocitopenia.

As análises bioquímicas realizadas pela paciente no dia do atendimento, estão demonstradas na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2. Análises bioquímicas realizadas na paciente da espécie canina, fêmea, castrada, com 9 anos de idade, sem raça definida, pesando 25,1 kg, no dia do atendimento no hospital veterinário em Curitiba/PR.

BIOQUÍMICOS	Resultado	Intervalo de Referência
Albumina (g/dL)	3,0	2,6 - 3,3
ALT (U/l)	253	10 – 88
Colesterol (mg/dL)	350	100 – 275



Creatinina (mg/dL)	0,6	0,5 - 1,5
FA (mg/dL)	776	10 – 156
Glicose (mg/dL)	99	60 – 120
Proteína total e frações		
Proteína total (g/dL)	7,0	5,4 - 7,1
Albumina (g/dL)	3,0	2,6 - 3,3
Globulina (g/dL)	4,0	2,7 - 4,4
Relação A:G	0,75	
Triglicérides (mg/dL)	350	20 – 120
Ureia (mg/dL)	52,7	15 – 40

Observações: Soro intensamente hemolisado.

Nos exames bioquímicos observou-se: o aumento das enzimas hepáticas (ALT e FA); azotemia pré renal demonstrada pela elevação de ureia; e hiperlipidemia (aumento de colesterol e triglicérides). Como observação, o soro da paciente encontrava-se intensamente hemolisado.

O exame de pesquisa de hemoparasitos em ponta de orelha teve resultado negativo, ou seja, não foram observados agentes na amostra analisada e a sorologia para leptospirose resultou em não reagente.

Em ultrassom abdominal observou-se esplenomegalia, gastrite, enterite, vesícula urinária repleta e com sedimentos. Foi solicitado a cistocentese ecoguiada para coleta de urina. Neste momento, foi visualizada a urina com coloração castanho escuro, como indica a Figura 1 (A). Verificou-se que após a centrifugação, o sobrenadante permaneceu com a mesma coloração, como indicado na Figura 1 (B).

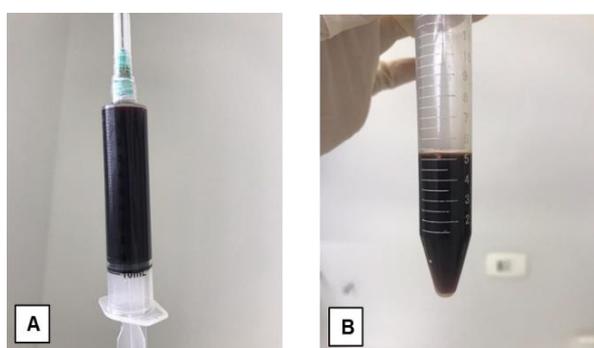


Figura 1. Urina com coloração castanho escuro da paciente da espécie canina, fêmea, castrada, com 9 anos de idade, sem raça definida, pesando 25,1 kg, no dia do atendimento no hospital veterinário em Curitiba/PR. Momento da coleta (A). Após centrifugação (B).



A urina foi encaminhada para a urinálise e apresentou algumas alterações em exame físico como aspecto intensamente turvo; coloração castanho escuro e densidade urinária elevada. O exame químico não foi possível de ser realizado devido a intensa coloração da urina. Por fim, na sedimentoscopia houve a presença de cristais de urato amorfo; cilindros hialinos e bactérias cocóides.

Com base nos sinais clínicos, histórico e resultados dos exames suspeitou-se de anemia hemolítica. A fim de descobrir a causa dessa enfermidade, foi solicitado o exame “Painel anemia RealPCR”; composto por testes biomoleculares para pesquisa de *Babesia spp.*, *Anaplasma spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Rickettsia spp.*, *Hepatozoon spp.*, *Leptospira spp.*, *Mycoplasma haemocanis* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* e testes imunológicos para pesquisa de anticorpo contra *Ehrlichia canis* e *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Anaplasma platys*, *Lyme C6* e antígeno contra *Dirofilaria*. O resultado desse teste foi negativo para todos os agentes infecciosos.

A paciente ficou internada devido a gravidade dos sinais clínicos apresentados e dos achados em exames laboratoriais. Iniciou tratamento de suporte com de fluidoterapia 100% NHB em Ringer Lactato + CRI Citrato de Maropitant (40 mcg/kg/h) para aliviar desconforto abdominal e alimentação natural própria. Com objetivo de diminuir a leucocitose e desvio a esquerda, foi prescrito Doxiciclina (6 mg/kg/BID, durante sete dias), Omeprazol (1 mg/kg/BID, durante sete dias). Visando a redução de hemólise, houve a continuação da administração de Prednisolona (1 mg/kg/SID, durante 30 dias).

A paciente recebeu acompanhamento do quadro clínico através de exames seriados (hemogramas e análises bioquímicas) após o início do tratamento. Não observou-se melhora com o protocolo estabelecido, portanto, pensando principalmente no leucograma, optou-se por alterar o antibiótico para Enrofloxacin (5 mg/kg/BID, durante sete dias) e Ceftriaxona (30 mg/kg/BID, durante sete dias).

Com o novo protocolo terapêutico, houve resposta positiva e sinais de melhora, como indicam os resultados dos exames realizados no quinto dia após o início do tratamento.

Durante os hemogramas, observou-se que houve a presença de anemia macrocítica hipocrômica até o sétimo dia após o início do tratamento. Em seguida, no 10º e 14º dia, a paciente apresentou anemia normocítica hipocrômica.

Com objetivo de confirmar o tipo de anemia apresentada pela paciente, durante o terceiro dia após o início do tratamento, foi solicitado a contagem de reticulócitos e os valores mostraram-se acima da referência. O valor corrigido total indicou 7,68% (referência: < 1%) e o valor absoluto total foi de 175.104/ μ L (referência: 5.000 – 60.000/ μ L). Através desses resultados, classificou-se a anemia como regenerativa.

Ao longo de todo tratamento foram observados critérios sugestivos de regeneração por parte da medula, como anisocitose, policromasia e corpúsculos de *Howell-Jolly*, que variavam de quantidade; além disso verificou-se a presença de esferócitos.

A paciente começou apresentar ausência de alterações na série vermelha a partir do 14º dia após o início do tratamento. No entanto, no 21º dia, iniciou-se o protocolo de retirada do corticoide,



que é realizado de forma gradual. O uso de Prednisolona (1 mg/kg) que estava prescrito a cada 24h, foi reduzido para a cada 48h, seguido para a cada 72h até que houvesse a total suspensão do medicamento.

Com relação aos leucogramas realizados ao longo do tratamento, verificou-se importantes leucocitoses por neutrofilia com desvio nuclear de neutrófilos à esquerda regenerativo. Além disso, houve a presença de monocitose e, em alguns dias, eosinopenia. A partir do 21º dia, houve regressão da leucocitose extrema e do desvio à esquerda, juntamente com o início da retirada gradual do imunossupressor.

As observações da série branca indicaram a presença de “raros” a “uma cruz” de monócitos ativados, presença de neutrófilos tóxicos com basofilia citoplasmática, núcleo em “donut” e corpúsculo de Döhle. Por fim, como no eritrograma, o leucograma do 57º dia não apresentou nenhuma observação digna de nota.

As plaquetas encontravam-se agregadas no 3º e 21º dia após o início do tratamento, por este motivo, não foi realizado a contagem, uma vez que podem conduzir a resultados falsamente diminuídos e incertos. Já no 5º, 7º e 28º dia houve a presença de macroplaquetas.

A paciente recebeu acompanhamento através de análises bioquímicas seriadas após o início do tratamento para o monitoramento e avaliação hepática e renal.

A albumina se manteve dentro do intervalo de referência para a espécie ao longo de todo o tratamento. Houve uma variação com relação aos valores da ALT, em alguns dias encontravam-se aumentados e em outros dentro da normalidade. A FA encontrou-se elevada em todas as análises. Com relação a creatinina e a ureia, mantiveram-se com valores normais para a espécie durante o tratamento, indicando ausência de azotemia.

Tendo em vista respostas positivas frente as análises seriadas, a paciente recebeu alta durante o 10º dia após o início de tratamento, mas com recomendações de continuar o acompanhamento através de exames laboratoriais até atingir total normalidade dos valores hematimétricos estabelecidos pela referência da espécie.

Durante os retornos da paciente, tutora relatou que o animal encontrava-se estável sem apresentar quaisquer sinais clínicos e observou-se também, através dos exames laboratoriais, total melhora da anemia hemolítica imunomediada.

Discussão

O presente estudo relata um caso de AHIM, em uma cadela sem raça definida, não encontrando-se na lista das raças mais comuns desta desordem. De acordo com a literatura citada por Leite et al. (2011), Thrall (2015) e Gorenstein et al. (2019), a AHIM pode ocorrer em cães de diversas raças, no entanto, Cocker Spaniel, Poodle, Sheepdog e Collie são as mais acometidas.

O animal do caso relatado refere-se a uma fêmea, sendo de acordo com a literatura na questão da prevalência desta desordem imunológica. Estudos apontados por Moraes e Takahira



(2013), Thrall (2015) e Nelson e Couto (2015), mostram que a AHIM atinge majoritariamente fêmeas devido questões hormonais.

A idade da paciente acometida pela AHIM relatada no presente trabalho, é de 9 anos, sendo condizente com o intervalo apontado por Gorenstein et al. (2019), onde explanam que a manifestação clínica de tal enfermidade pode ocorrer em animais de 1 a 13 anos. Por outro lado, Moraes e Takahira (2013), Thrall (2015) e Nelson e Couto (2015), relatam que pacientes que manifestaram a desordem apresentavam em média 6 anos.

Os sinais clínicos apresentados pela paciente foram em sua maioria inespecíficos, como a falta de apetite, hipertermia, abdômen abaulado e mucosas ictéricas. Por outro lado, houve também a presença de hemoglobinúria, sendo um achado específico que pode indicar hemólise intravascular, bem como citado por Thrall (2015). Desta forma, a manifestação clínica condiz com a literatura apresentada por Leite et al. (2011), Moraes e Takahira (2013) e Thrall (2015), visto que estes autores explanam que o animal pode apresentar fraqueza, letargia, intolerância ao exercício, palidez ou icterícia de mucosas, anorexia, vômito, diarreia, hipertermia, desconforto abdominal, taquicardia, dispnéia, alteração na coloração da urina, espleno, hepato e linfadenomegalia.

A paciente apresentou hemoglobinúria decorrente de hemólise intravascular, uma vez que todas as demais possíveis causas para esta alteração foram descartadas, entre elas: acidentes ofídicos; rabdomiólise; isostenúria e leptospirose. Conforme Dalmolin (2011) e Mezaroba (2019), a urina de coloração escurecida, apresenta alguns diferenciais como hematúria, hemoglobinúria e mioglobínúria, dessa forma, é importante que haja a diferenciação dessas alterações por meio de técnicas laboratoriais e/ou através do histórico do paciente.

Não foi realizado o exame laboratorial que distingue mioglobínúria de hemoglobinúria no presente caso, porém, este baseia-se na precipitação da hemoglobina em solução saturada de sulfato de amônia a 80%, tendo em vista que a mioglobina é solúvel nessa solução e a hemoglobina é insolúvel (Dalmolin, 2011; Mezaroba, 2019).

A terapia da paciente consistiu em corticoide e tratamento de suporte. O corticoide usado no presente caso foi Prednisolona (1 mg/kg/SID), sendo um fármaco de predileção para tal enfermidade. Contudo, a dose utilizada foi menor que a sugerida por Gorenstein et al. (2019) e Swann et al. (2019), onde indicam a utilização de 2 a 3 mg/kg/dia do medicamento. O tratamento de suporte está citado no consenso realizado por Swann et al. (2019), indica-se a fluidoterapia, antibioticoterapia e transfusão sanguínea.

No caso relatado, não foi realizado o teste de Coombs. Desta forma, chegou-se ao diagnóstico de AHIM primária ou não associativa, por meio de sinais clínicos, achados laboratoriais e exclusão de eventuais suspeitas. Estas metodologias são citadas pelo consenso realizado por Garden et al. (2019). Outros autores concordam e explanam que há possibilidade de realizar testes como o de *Coombs*, teste de aglutinação salina e citometria de fluxo (Leite et al., 2011; Thrall, 2015; Gorenstein et al., 2019). Conforme estudo realizado por Moraes et al. (2017), a citometria de fluxo se confirmou como uma técnica mais sensível para o diagnóstico de AHIM quando comparada aos



testes de aglutinação e *Coombs*. Por outro lado, o teste de aglutinação salina é mais específico que o teste de *Coombs*, e este último, é mais sensível.

As alterações laboratoriais observadas nos exames da paciente foram compatíveis com anemia e através dos parâmetros hematimétricos VCM e CHCM aumentados, classificou-se a anemia em macrocítica e “hipercrômica”. O VCM indica o tamanho das hemácias, desta forma, quando elevado, pode sugerir a presença de precursores do eritrócito na circulação. Já o CHCM avalia a coloração dos eritrócitos, no entanto, quando acima dos valores de referência sugere a presença de hemoglobina livre dentro do vaso sanguíneo que significa o rompimento das células vermelhas, gerando a presença de hemólise (Thrall, 2015).

A presença de metarrubrócitos, policromatófilos e corpúsculos de *Howell-Jolly* nos esfregaços sanguíneos da paciente indicam eritrócitos jovens na circulação sanguínea, ou seja, estes aspectos são considerados sinais de regeneração, deixando evidente a resposta da medula óssea, a fim de suprir a falta dessas células. A medula, nesses casos, é estimulada até o ponto em que a massa eritróide retorne ao seu valor basal. Desta forma, estes achados laboratoriais são congruentes com a literatura de Thrall (2015); Souza (2016); Garden et al. (2019), onde indicam que AHIM são caracterizadas como anemias regenerativas.

Por outro lado, Brandão et al. (2004), relatam o caso de um paciente com AHIM não regenerativa. Brandão et al. (2004) e Balch e Mackin (2007), explanam que quadros hemolíticos não regenerativos são observados em crises agudas, onde ainda não houve tempo para a liberação de eritrócitos jovens na circulação, casos de doença medular primária com consequente supressão da mielopoese, doença medular infiltrativa, deficiência nutricional associada ou destruição imune dos precursores eritróides na medula óssea.

Os esferócitos foram vistos ao longo dos esfregaços sanguíneos da paciente durante o tratamento. Segundo Figuera et al. (2010) a esferocitose é fortemente sugestiva de que a patogênese da hemólise seja imunomediada. Entretanto, tal alteração morfológica pode nem sempre estar presente em cães com essa forma de anemia.

Nos leucogramas iniciais, observou-se leucocitose por neutrofilia e monocitose, da mesma forma como cita Thrall (2015). No entanto, a paciente apresentou também aumento de bastonetes e metamielócitos, caracterizando desvio à esquerda regenerativo, o qual designa maior quantidade de neutrófilos segmentados do que jovens na corrente sanguínea. Este achado poderia estar associado a um processo inflamatório ou até mesmo uma causa infecciosa oportunista, mesmo com os testes resultando em negativos, não se pode descartar tal possibilidade, assim como explana Carvalho (2008).

Contudo, como uma outra possível causa para o aumento dos leucócitos totais, seria o uso do glicocorticoide usado pela paciente (Prednisolona). Assim como explicam Silva et al. (2008) que o aumento na concentração sérica de glicocorticóides leva a liberação de neutrófilos maduros para a circulação e diminuição da migração dos neutrófilos para os tecidos.

A presença de neutrófilos tóxicos observados nos esfregaços sanguíneos da paciente, reforçam a aceleração da medula óssea na produção e liberação dessas células devido ao aumento



da necessidade tecidual. Como explanam Bastos, et al. (2016), a aceleração na neutropoiese resulta na liberação de células com maior número de organelas, caracterizando a basofilia citoplasmática, núcleo em “*donut*” e corpúsculo de Döhle.

A hemossiderina intracitoplasmática observada em monócitos no dia do atendimento da paciente, trata-se de um pigmento resultante da destruição da hemoglobina, sendo consequência do depósito em excesso de ferro (Pires, 2009). Já a presença dos monócitos ativados, indica atividade fagocítica e são caracterizados pela presença de vacúolos no citoplasma, além de apresentarem uma forma mais irregular, algumas vezes (Thrall, 2015).

Ao longo dos exames, observou-se que os valores de eosinófilos foram diminuindo até que houvesse eosinopenia, isto pode ser explicado pelo uso de corticosteroides exógenos, assim como relatam Silva et al. (2008) e como ocorreu com a paciente.

No exame realizado no dia do atendimento da paciente, foi possível observar trombocitopenia. Esta alteração laboratorial está de acordo com a literatura de Moraes et al. (2016), uma vez que citado a presença de trombocitopenia em cães com AHIM e pode estar relacionada à concomitante destruição imunomediada das plaquetas, aumento do consumo devido à vasculite, processos inflamatórios generalizados, CID ou sequestro.

Por outro lado, durante o tratamento, houve o aumento das plaquetas da paciente, podendo sugerir um aumento na atividade plaquetária, o que torna importante o acompanhamento devido ao risco trombótico. Como explana Gorenstein et al., (2019), estas alterações podem ser investigadas com teste viscoelástico (tromboelastometria e tromboelastografia) a fim de avaliar a hemostasia do plasma e componentes celulares.

O perfil bioquímico pode revelar a gravidade da lesão tecidual causada pela hipóxia ou pela deposição de imunocomplexos, levando a aumento de enzimas hepáticas e renais, respectivamente. Alterações em avaliações bioquímicas também podem indicar efeito tóxico direto da hemoglobina livre nas células dos túbulos renais (Gorenstein et al., 2019). Assim sendo, de acordo com a literatura citada, a paciente apresentou elevação de ALT e FA, indicando lesão hepática e colestase. Houve a manifestação de azotemia pré-renal pelo aumento da ureia no dia da consulta, também conforme citado por Thrall (2015). Ramos e Leite (2017) e Gorenstein et al. (2019), completam que há possibilidade de haver azotemia renal devido às causas apontadas acima.

O aumento dos níveis séricos das enzimas hepáticas demonstradas nos exames da paciente durante o tratamento, também pode ser explicada devido ao uso de Prednisolona. Como citam Berbert (2004) e Pereira et al. (2011), o uso dos glicocorticóides pode desencadear uma série de efeitos colaterais, bem como a ocorrência de hiperadrenocorticismos e alterações hepáticas, através de ocorrência de hepatomegalia e degeneração dos hepatócitos, promovendo elevação dos níveis séricos das enzimas ALT, FA e GGT.

O soro da paciente encontrava-se intensamente hemolisado no dia do atendimento. Esta alteração na coloração da amostra pode interferir no resultado de algumas análises bioquímicas conforme a metodologia utilizada, principalmente em técnicas que utilizam a espectrofotometria.



Alguns exemplos de análises bioquímicas que podem estar com resultados falsamente diminuídos devido a hemólise são: ALT, FA, GGT e creatinina. Por outro lado, pode ocorrer o falso aumento dos valores de: glicose, proteína total, albumina e ureia (Santos et al., 2017; Morais et al., 2018).

A paciente relatada não demonstrou alterações ou complicações após o tratamento, apresentou-se sem anemia e sem sinais de recidivas. No entanto, a literatura demonstra uma grande variação na mortalidade, com índices de 25% até 70% (Passarelli, 2011) estando relacionados os distúrbios hemostáticos, principalmente coagulação intravascular disseminada e tromboembolismo (Castilho et al., 2016; Gorenstein et al., 2019).

Conclusão

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) está entre as doenças autoimunes mais comuns que afetam cães. O prognóstico é cauteloso, com taxas de mortalidade variando de 25% a 70%. Sendo assim, torna-se uma importante enfermidade que pode culminar no óbito do paciente, desta forma deve ser reconhecida como uma emergência médica. Além disso, deve-se explicar a necessidade de exames laboratoriais frequentes para monitoração, evolução e prognóstico do paciente, certificando-se da melhora do quadro apresentado, qualidade de vida e bem-estar do animal.

Referências

- ANDRADE, S. F.; et al. Anemia hemolítica em cães: relato de caso. *Colloquium Agrariae*. v. 6. n.1.p. 50-58, 2010.
- BAGGIO, P. G. S. Diagnóstico das anemias e avaliação dos parâmetros do ferro em cães saudáveis e anêmicos. 2019, Curitiba. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.
- BALCH, A.; MACKIN, A. Canine immune-mediated hemolytic anemia: pathophysiology, clinical signs, and diagnosis. *Compendium: continuing education for veterinarians*. v. 29, n. 4, p. 217-225, 2007.
- BASTOS, E. M. A.; "Importância da avaliação morfológica de neutrófilos como marcadores de infecção sistêmica em cães. Relato de dois casos". *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*. v. 38. n.2. p. 195-202, 2016.
- BERBERT, L. R. H. Efeitos colaterais de anti-inflamatórios não esteróides em cães e gatos. 2004. Betim, 42p. Monografia (Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais) - Curso de Pós-Graduação, Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais.
- BRANDÃO et al. Anemia hemolítica imunomediada não regenerativa em um cão. *Ciência Rural*. v. 34. n. 2. p. 557-561, 2004.
- CARVALHO, T. F. A importância da patologia clínica na veterinária: hematologia e urinálise em pequenos animais. 2008. Jataí, 120p. Trabalho de conclusão de curso de graduação, Universidade Federal de Goiás.
- CASTILHO, R. C.; et al. Anemia hemolítica imunomediada em cães. *Scientific Electronic Archives*. v. 9, n. 5, p. 72-84, 2016.
- DALMOLIN, M. L. A urinálise no diagnóstico de doenças renais. *Seer – UFRGS*. 2011.



- DALMOLIN, M. L.; et al. Valores de referência para tempos de coagulação em uma população de cães de Porto Alegre, RS, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 43, 2015.
- FIGHERA, R. A.; et al. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009). *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 30. n. 11, p. 974-987, 2010.
- GARDEN, O. A.; et al. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immunemediated hemolytic anemia in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. v. 33, p. 313–334, 2019.
- GORENSTEIN, T. G.; et al. Anemia hemolítica imunomediada primária em cães – revisão de literatura. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. v. 22, n. 2, p. 71-75, 2019.
- LEITE, J. H. A. C.; CARVALHO, L. C. N.; PEREIRA, P. M. Anemia hemolítica imunomediada em cães – relato de três casos. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*. v. 32, n. 1, p. 319-326, 2011.
- MEZAROBA, M. E. Comparação entre tiras reagentes veterinárias e humanas na urinálise de cães e gatos. 2019. Curitiba, 43p. Trabalho de conclusão de curso de graduação, Universidade Federal de Santa Catarina.
- MORAES, L. F. e TAKAHIRA, R. K. Avaliação dos distúrbios hemostáticos e dos diferentes marcadores prognósticos clínico-laboratoriais em cães com AHIM. *Veterinária e Zootecnia*. v. 20. n. 1. p. 10-19, 2013.
- MORAES, L. F.; et al. Avaliação das alterações hemostáticas e do risco tromboembólico em cães com AHIM. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v. 36, n. 5. p. 405-411, 2016.
- MORAES, L. F.; TAKAHIRA, R. K; GOLIM, M. A. Avaliação hematológica e da função renal em cães com AHIM. *Acta Scientiae Veterinariae*. v. 45. n. 1510, 2017.
- MORAIS, L.; et al. Hemólise interfere na mensuração dos biomarcadores plasmáticos de estresse oxidativo em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v. 70. n. 3. p.713-721, 2018.
- NELSON, R. W; COUTO, C. G. *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2015.
- PASSARELLI, D. Resposta proliferativa de células mononucleares do sangue periférico frente a membranas eritrocitárias autólogas de cães recentemente imunizados. 2011. São Paulo, 110p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária, Universidade de São Paulo.
- PEREIRA, B. J.; et al. Avaliação dos efeitos da terapia com prednisona em cães utilizando análises ultrassonográfica, citopatológica e histopatológica. *Revista Ceres*. v. 58. n. 5. p. 561-566, 2011.
- PIRES, L. S. A. Determinação dos parâmetros do ferro em cães sadios e anêmicos. 2009. Curitiba, 103p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná.
- RAMOS, L. T; LEITE, A. K. R. M. Alterações clínicas e laboratoriais em um cão com anemia hemolítica imunomediada: relato de caso. *Revista Científica de Medicina Veterinária*. Ano XIV, n. 28, 2017.
- SANTOS, L. M. C.; et al. Efeito do grau de hemólise na bioquímica sérica de cães e gatos em amostras frescas e após congelamento. 27º Seminário de Iniciação Científica – UDESC, 2017.
- SILVA, R; et al. Leucograma de estresse. *Revista Científica Eletônica de Medicina Veterinária*. Ano VI. n. 11, 2008.
- SOUZA, C. M. L. Avaliação da resposta hematológica em cães anêmicos estimulados com acupuntura. 2016. Belo Horizonte, 57p. Dissertação (Mestrado em Medicina e Cirurgia Veterinárias) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais.
- SWANN, W. J.; et al. ACVIM consensus statement on the treatment of immune- mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. v. 33, p. 1.141-1.172, 2019.
- THRALL, M. A.; et al. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Roca. 2015.