

ASPECTOS LABORATORIAIS EM CASO DE ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA CANINA

Laboratory aspects in a case of canine immune-mediated hemolytic anemia

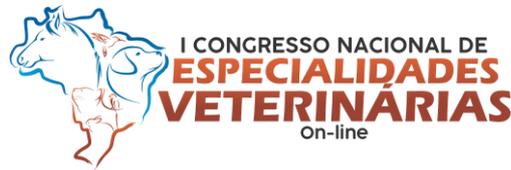
RESUMO

Introdução: A anemia hemolítica imunomediada é uma afecção comum em pequenos animais, ocorre por opsonização da superfície da membrana eritrocitária por imunoglobulinas e/ou complemento, levando à hemólise intra ou extravascular. Ocorre de maneira primária, quando não há doença subjacente, ou secundária quando há doenças infecciosas, neoplasias ou induzidas pela administração de fármacos, sendo a secundária mais comum nos cães. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi descrever e discutir sobre as alterações laboratoriais encontradas em cão com anemia hemolítica imunomediada secundária à babesiose. **Material e métodos:** Acompanhamos o caso de um cão da raça Shih-Tzu de 21 meses que chegou para consulta com episódios de êmese, inapetência, apatia, mucosas pálidas e nível de consciência diminuído. O diagnóstico deu-se através de exames de hemograma, considerando a presença de esferócitos em esfregaço sanguíneo, e também por teste de autoaglutinação em solução salina. **Resultados:** Em exames laboratoriais iniciais, apresentou anemia macrocítica hipocrômica de caráter regenerativo, com presença intensa de eritroblastos em sangue periférico, esferocitose e policromasia, sem alterações em leucograma, com teste de autoaglutinação positivo. Após o início do tratamento, foram realizados novos exames que acompanharam a resposta do organismo frente à afecção, nestes novos exames, foram vistas alterações em leucograma e exames bioquímicos de fosfatase alcalina e albumina, a contagem de reticulócitos também foi realizada após 4 dias de tratamento. **Conclusão:** A anemia hemolítica imunomediada pode ter caráter regenerativo ou arregenerativo, e pode levar a complicações como a ocorrência de coagulopatia intravascular disseminada. O diagnóstico e acompanhamento laboratorial desta doença são de suma importância para o tratamento do animal acometido.

Palavras-chave: babesiose; eritroblastos; esferocitose; reticulócitos.

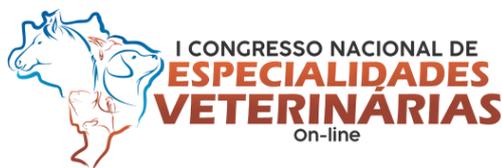
ABSTRACT

Introduction: The immune-mediated hemolytic anemia is a common condition in small animals, occurs by opsonization of the surface of the erythrocyte membrane by immunoglobulins and/or complement on, leading to intravascular or extravascular hemolysis. It occurs primarily when there is no underlying disease, or secondary when there are infectious diseases, neoplasms and drug administration, the secondary being more common in dogs. **Objectives:** The objective of this work was describe and discuss the laboratory alterations in a dog with immune-mediated hemolytic anemia secondary to babesiosis. **Material and methods:** We accompanied the case of a 21 months old Shih-Tzu dog who arrived for consultation with a problem of emesis, inappetence, apathy, pale mucous membranes, and a depressed level of consciousness. The diagnosis was made through hemogram exams, considering the presence of spherocytes in blood smear solution, and also by blood autoagglutination test. **Results:** In initial laboratory tests, they present with regenerative hypochromic macrocytic anemia with intense presence of erythroblasts in peripheral blood, spherocytosis, and polychromasia, without changes in the leukogram, with a positive autoagglutination test. After the start of treatment, new tests were performed that followed the body's response to the disease, in these new tests, changes were performed in



leukogram and biochemical tests of alkaline phosphatase and albumin, the reticulocyte count was also performed after 4 days of treatment. **Conclusion:** Immune-mediated hemolytic anemia can be regenerative or non-regenerative, and can lead to complications such as the occurrence of disseminated intravascular coagulopathy. The diagnosis and laboratory monitoring of this disease is of paramount importance for the treatment of the affected animal.

Key Words: babesiosis; erythroblasts; reticulocyte; spherocytosis;



1 INTRODUÇÃO

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) caracteriza-se pela destruição das hemácias mediada por imunoglobulinas e/ou pelo complemento que opsonizam a superfície da membrana eritrocitária, levando à hemólise intra ou extravascular. Nas extravasculares, as hemácias são fagocitadas no baço, fígado e na medula óssea, enquanto na intravascular ocorre lise das hemácias na corrente sanguínea (SILVA et al., 2017). Pode ocorrer de maneira primária, quando não há doença subjacente, ou pode ser secundária, causada pelo uso de fármacos, contato com substâncias químicas, neoplasias ou infecção por micro-organismos (FIGHERA, 2007). Além dos problemas causados pela anemia, a ocorrência de AHIM predispõe a ocorrência de coagulação intravascular disseminada (CID), tornando o acompanhamento laboratorial de extrema importância até a remissão da doença. O presente trabalho tem como objetivo relatar o diagnóstico laboratorial de um caso de anemia hemolítica imunomediada e sua evolução após tratamento.

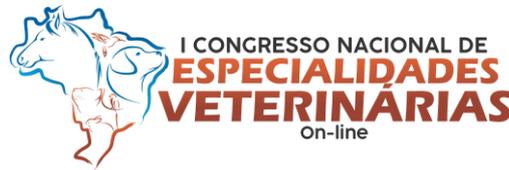
2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi atendido um cão da raça Shih-Tzu de 21 meses de idade, apresentando episódios de vômito, inapetência e apatia com tempo de evolução de 4 dias. Em exame físico, apresentava temperatura retal de 38,5°C, frequência cardíaca de 136 bpm, frequência respiratória de 32 mpm, escore corporal normal, mucosas pálidas e nível de consciência deprimida. Foram realizados exames de hemograma, exames bioquímicos sanguíneos e teste de autoaglutinação como métodos diagnósticos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resultado do primeiro hemograma constatou intensa anemia macrocítica hipocrômica (hematócrito 14%, eritrócitos $1.29 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina 3,6 g/dL, V.C.M. 108 fl, C.H.C.M. 25%), com presença de 177 eritroblastos em 100 leucócitos contados, trombocitose (454mil/ μL) e diminuição de proteínas plasmáticas totais (5,8 g/dL), sem alterações em leucograma. Em esfregaço sanguíneo foram visualizados raros esquistócitos, ceratócitos e esferócitos (1-5/campo em 1000 vezes de aumento), hipocromia moderada, anisocitose e policromasia acentuadas. Plasma e soro sanguíneos apresentavam-se ictericos (uma de quatro cruzes), exames bioquímicos se apresentaram dentro dos parâmetros normais da espécie.

Esferócitos são hemácias que perderam sua forma bicôncava e se tornaram esféricas por meio de fagocitose de macrófagos de partes da membrana opsonizados por anticorpos ou complemento que eritrocitária (THRALL et al., 2015), quando visualizados, são altamente sugestivos de anemia hemolítica imunomediada (AHIM). Policromasia, anisocitose, eritroblastemia são considerados indícios de regeneração (MARTINATO, 2020). Esquistócitos e ceratócitos costumam acontecer quando há alguma alteração em endotélio intravascular, podem ser vistos em animais com coagulopatia intravascular disseminada (CID), neoplasia vascular como o hemangiossarcoma, ou com deficiência de ferro (THRALL et al., 2015).



Também foi realizado teste de autoaglutinação em solução salina, o qual deu positivo. Este teste consiste em depositar sobre uma lâmina de microscopia uma gota de sangue total com EDTA diluída em igual quantidade de solução salina (NaCl 0,9%), seguida da deposição de uma lamínula sobre a mistura, que deve ser observada em microscópio óptico no aumento de 400x e obtém-se o resultado positivo ou negativo. A visualização de aglutinação espontânea de eritrócitos se dá pelas ligações cruzadas dos anticorpos (IgM ou IgG) e é um achado comum em casos de anemia hemolítica imunomediada (MARTINATO, 2020).

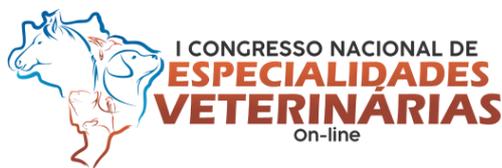
Segundo Couto (2014), o achado simultâneo de esferocitose, policromasia e teste de autoaglutinação positivo, em animal com histórico de anemia aguda, é patognomônico para AHIM.

Dentre as causas de anemia hemolítica imunomediadas secundária, estão agentes infecciosos como *Erlichia sp.* e *Babesia sp.*, neoplásicos como hemangiossarcoma e linfoma, e medicamentosa pelo uso de levamizol, cefalosporinas, sulfas e penicilinas, entre outros (GORENSTEIN, 2018). O animal tinha histórico de contato com cães de rua, após realização dos exames clínicos e laboratoriais, deu-se o diagnóstico presuntivo de anemia hemolítica imunomediada secundária à babesiose e iniciou-se o tratamento.

Dois dias após o primeiro exame e início de tratamento foi realizado novo hemograma, que demonstrou hematócrito 17%, eritrócitos $1.48 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina 4,5g/dL, V.C.M. 114 fl, C.H.C.M. 26%, contagem de 68 eritroblastos em 100 leucócitos contados, proteínas plasmáticas totais em 6,8g/dL, plaquetas em 951mil/ μL . Neste exame, o leucograma encontrou-se alterado, apresentando leucocitose (26.400 μL), por neutrofilia (19,53 mil/ μL) com desvio á esquerda (0,79 mil/ μL bastonetes). Apresentava também anisocitose e policromasia acentuadas, acentuados policromatófilos, raros esferócitos (0-3/campo em aumento de 1000x), hipocromia discreta, raros corpúsculos de Howell-Jolly e raros neutrófilos tóxicos.

Os corpúsculos de Howell-Jolly são restos nucleares no citoplasma de eritrócitos, e estão associados à anemia regenerativa (THRALL et al., 2015). Animais acometidos por AHIM podem apresentar tanto leucopenia, quanto leucocitose. A leucocitose está ligada à liberação de citocinas pró-inflamatórias durante o processo hemolítico ou estimulação da medula óssea tanto para série eritroide, quanto mielóide, podendo ser observado aumento do número de neutrófilos com ou sem desvio à esquerda (MARTINATO, 2020), a presença de desvio à esquerda e de neutrófilos tóxicos são indícios de inflamação.

Após quatro dias de tratamento, novo hemograma e exames bioquímicos foram realizados. Apresentou hematócrito 26%, eritrócitos $2,26 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina 7,1g/dL, V.C.M. 115 fl, C.H.C.M. 27%, contagem de 74 eritroblastos em 100 leucócitos contados, proteínas plasmáticas totais em 6,8 g/dL e agregação plaquetária. Em leucograma, apresentou leucocitose (23,9 mil/ μL) por neutrofilia (18,64 mil/ μL) e monocitose (2,15 mil/ μL). Em lâmina, foi visualizada hipocromia moderada, anisocitose discreta, acentuados policromatófilos, raros neutrófilos tóxicos e raros neutrófilos hipersegmentados. Desta vez, foi realizada contagem de reticulócitos, com resultado de 17,854,000 células/ μL (valor absoluto corrigido) e 7,9 % (corrigido). Os resultados dos exames bioquímicos para mensuração de ALT, cálcio, creatinina, fósforo, potássio, proteínas totais, triglicerídeos e uréia estavam dentro dos parâmetros normais, enquanto albumina (3,9 g/dL) e fosfatase alcalina (366,9 U/L) estavam acima dos valores de referência.



O aumento da fosfatase alcalina geralmente está associado ao uso prolongado de corticosteroides, devido à metabolização hepática destes medicamentos, enquanto a albumina tende a aumentar quando há diminuição da inflamação sistêmica (GORENSTEIN, 2018). Reticulócitos são eritrócitos imaturos que são lançados na corrente sanguínea devido ao aumento da liberação da eritropoietina, como resposta a hipóxia tecidual (THRALL et al., 2015). O aumento do número de reticulócitos ocorre entre o quarto e o sétimo dia após o estímulo (MARTINATO, 2020).

O último exame de acompanhamento ocorreu oito dias após o primeiro exame, os resultados obtidos foram: hematócrito 34%, eritrócitos $3,06 \times 10^6 / \mu\text{L}$, hemoglobina 9,6g/dL, V.C.M. 111fl, C.H.C.M. 28%, contagem de 7 eritroblastos em 100 leucócitos contados, proteínas plasmáticas totais em 6 g/dL e 862 mil/ μL plaquetas. Apresentou anisocitose e policromasia discretas, raras macroplaquetas, sem alterações em leucograma. Paciente apresentou melhora significativa em seu estado clínico após tratamento.

4 CONCLUSÃO

O diagnóstico de anemia hemolítica imunomediada pode ser obtido por meio de testes laboratoriais simples como o hemograma, análise de esfregaço sanguíneo, e o teste de autoaglutinação em solução salina. Existem diferenças laboratoriais nos exames de animais com AHIM regenerativa e não regenerativa, além de existirem riscos quanto à ocorrência de coagulação intravascular disseminada, portanto, é de extrema importância que haja acompanhamento do paciente para avaliar a progressão da doença até sua remissão.

5 REFERÊNCIA

- COUTO, CG. (2014). Hematology. In R. W. Nelson & C. G. Couto, eds. Small Internal Medicine. PA: Elsevier, p.1207–1212.
- FIGHERA, R.A. (2007). Anemia hemolítica em cães e gatos. *Acta Scientiae Veterinariae*, v. 35(Supl 2): s264-s266, 2007.
- GORENSTEIN, T.G. (2018). Risco trombótico em cães com anemia hemolítica imunomediada primária e secundária a *E. canis* sob tratamento com micofenolato de mofetila. 2018. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2018.
- MARTINATO, F. (2020). Alterações laboratoriais em cães com anemia hemolítica imunomediada secundária (AHIM) responsiva e não responsiva. 2020. 40p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2020.
- THRALL, MA.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, T.W., (2015). Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.