

ANEMIA HEMOLÍTICA IMUNOMEDIADA ASSOCIADA À MICOPLASMOSE EM UM CÃO

*(Associated immunomediated hemolytic anemia
mycoplasmosis in a dog)*

Amanda de Lacerda MOURA*¹; Edilene Pereira de SOUSA¹; Thais Sousa
MAGALHÃES¹; Francisco Wesley da Silva ALVES¹; Igor Cardoso
BARROSO²; Isaac Neto Goes da SILVA¹; Michelle Costa e SILVA¹

¹Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Universidade Estadual do Ceará (UECE),
Av. Dr. Silas Munguba, 1700, Itaperi, Fortaleza, CE. CEP: 60.740-000; ²Clínica Médica
de Pequenos Animais (UECE). *E-mail: amanda.lacerda@aluno.uece.br

RESUMO

A anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é uma reação de hipersensibilidade tipo II onde ocorre o aumento da destruição das hemácias. Ela pode ser dividida em primária, caracterizada por não ter uma causa subjacente, e em secundária, pode ser causada por agentes infecciosos, como a micoplasmose, neoplasias, medicamentos e transfusões. O objetivo desse trabalho foi realizar uma análise clínica e laboratorial de um cão com anemia hemolítica imunomediada decorrente da *Mycoplasma spp.* Uma cadela da raça Pit Bull, com 05 meses de idade, foi levada ao hospital apresentando vômitos, diarreia e anorexia. No exame físico, foi possível observar a presença de carrapatos e mucosas ictericas. Nos exames hematológicos foi possível evidenciar as alterações morfológicas de hemácias que caracterizavam anemia hemolítica imunomediada e a presença do parasita *Mycoplasma spp.* Nas análises bioquímicas se observou níveis séricos aumentados de creatinina e uréia. Pode-se concluir que, a observação de *Mycoplasma spp.* em esfregaços sanguíneos associada às alterações morfológicas eritrocitárias são de relevante importância para o diagnóstico de AHIM, auxiliando assim na instituição da melhor conduta terapêutica, contribuindo para o prognóstico do paciente.

Palavras-chaves: Canino, *Mycoplasma spp.*, esfregaço sanguíneo, alterações hematológicas.

ABSTRACT

Immune-mediated hemolytic anemia (AHIM) is a type II hypersensitivity reaction, where red blood cell destruction occurs or increases. It can be divided into primary, characterized by not having an underlying cause, and secondary, which can be caused by infectious agents, such as mycoplasmosis, neoplasms, drugs and transfusions. The objective of this work was to perform a clinical and laboratory analysis of a dog with immune-mediated hemolytic anemia due to *Mycoplasma spp.* A five-months-old female Pit Bull dog was taken to the hospital presenting vomiting, diarrhea and anorexia. On physical examination, it was possible to observe the presence of ticks and icteric mucous membranes. In hematological exams, it was possible to show morphological changes in red blood cells that characterize immune-mediated hemolytic anemia and the presence of the parasite *Mycoplasma spp.* In the biochemical analyzes it was observed increased serum levels of creatinine and urea. It can be concluded that the observation of *Mycoplasma spp.* in blood vessels associated with erythrocyte morphological changes are of relevant importance for the diagnosis of AHIM, thus assisting in the practice of a better method of therapy, contributing to the patient's prognosis.

Key words: Canine, *Mycoplasma spp.*, blood smear, hematological changes.

INTRODUÇÃO

Anemia hemolítica imunomediada representa uma reação de hipersensibilidade do tipo II com a formação de autoanticorpos que são fixados na superfície dos glóbulos vermelhos. Ela pode ser dividida em dois tipos - primário (idiopático), sendo caracterizado por uma desordem

auto-imune sem a identificação de uma causa subjacente, e secundária como decorrente de neoplasias, agentes infecciosos, como *Mycoplasma spp*, modificações antigênicas induzidas por medicamentos, transfusões sanguíneas e isoeritrolise neonatal (CASTILHO *et al.*, 2016; MANEV e MARINCHEVA, 2018).

Os sinais clínicos normalmente variam, podendo apresentar sinais atribuídos a anemia, e no caso de AHIM secundária, decorrente da causa base. As principais queixas e manifestações clínicas são apatia, anorexia, prostração, perda de peso, vômito, diarreia, desidratação, aumento das frequências cardíaca e respiratória icterícia e palidez das membranas mucosas (CASTILHO *et al.*, 2016; MANEV e MARINCHEVA, 2018).

Os achados laboratoriais incluem principalmente a diminuição do volume globular, da contagem de eritrócitos e da concentração de hemoglobina. A avaliação detalhada do esfregaço sanguíneo é de extrema importância, pois pode-se observar alterações morfológicas que sugerem regeneração medular, esferócitos, autoaglutinação de hemácias, eritrofagocitose, hemácias fantasmas, são evidências importantes para o diagnóstico de AHIM. No caso de AHIM secundária, o esfregaço deve ser avaliado quanto a hemoparasitas caninos, como *Mycoplasma spp.*, *Babesia sp.*, mórula de *Ehrlichia canis* (THRALL *et al.*, 2015; JERICÓ *et al.*, 2015; GARDEN *et al.*, 2019).

O teste de Coombs ou da antiglobulina consiste em lavar os eritrócitos em solução salina para remover as proteínas plasmáticas e as imunoglobulinas não específicas associadas aos eritrócitos. Após esse procedimento, misturar uma alíquota das hemácias levadas com o soro de Coombs. Se a imunoglobulina do paciente sensível estiver ligada ao eritrócito, ocorrerá a indução da aglutinação eritrocitária, sendo uma ferramenta auxiliar de diagnóstico de anemia hemolítica imunomediada (THRALL *et al.*, 2015).

Distinguir entre AHIM primária e secundária é crucial para o tratamento efetivo, pois na AHIM secundária, a causa primária precisa ser eliminada para que ocorra a melhora do paciente. O tratamento consiste no emprego de glicocorticosteroides, que reduz a produção de anticorpos, a atividade de células T e a ação dos macrófagos. Entre as desvantagens de glicocorticoides incluem-se predisposição do paciente a infecção, doença tromboembólica, poliúria e polidipsia. Associações com outras medicações levam a aumento da imunossupressão, permitindo um controle inicial mais rápido da doença e a redução gradual do glicocorticoide. A transfusão de sangue pode ser útil como um tratamento de suporte (JERICÓ *et al.*, 2015; SWANN *et al.*, 2019).

O *Mycoplasma spp.* é uma bactéria que parasita as superfícies de hemácias e tem a capacidade de induzir anemia hemolítica imunomediada secundária. Em cães, são reconhecidas duas espécies: *Mycoplasma haemocanis* e *Mycoplasma haematoparvum*. É transmitido pelo carrapato das espécies *Rhipicephalus sanguineus*, prevalente na região. Para o diagnóstico, é possível a visualização microscópica do agente intraeritrocitário em esfregaços sanguíneos, além de métodos moleculares como a reação em cadeia pela polimerase (PCR) e imunofluorescência direta (MELO *et al.*, 2017). Diante disso, o objetivo desse trabalho foi realizar uma análise clínica e laboratorial de um cão com anemia hemolítica imunomediada decorrente da presença de *Mycoplasma spp.*

ATENDIMENTO AO PACIENTE

Uma cadela da raça Pit Bull, de 5 meses e 10 dias de idade, não castrada, pesando 9,5kg, deu entrada no hospital veterinário Prof. Sylvio Barbosa Cardoso em março de 2020. A queixa principal do tutor era que o animal estava apático, vomitando, anorexia, fezes pastosas e escuras. Foram feitos os exames físicos e solicitado hemograma completo, dosagens bioquímicas séricas de creatinina, ureia, alanina amino transferase (ALT) e albumina.

Para o processamento das amostras de sangue, foi realizada a coleta de sangue pela veia jugular e acondicionado nos tubos com e sem anticoagulante para a realização do hemograma completo e dosagens bioquímicas. A contagem de células e dosagem de hemoglobina sangue foi realizada pelo aparelho BC 2800 Vet (Mindray[®], China). O hematócrito pela técnica de centrifugação. A avaliação da contagem diferencial de leucócitos, da morfologia das células e a pesquisa de hemoparasitas, foram realizados em esfregaços sanguíneos, corados com kit Panótico rápido (Renilab[®], Brasil) e visualizados à microscopia óptica nos aumentos de 10x e 100x. Além disso, foi realizada uma diluição (4:1) com solução salina e sangue do paciente e a solução obtida foi colocada em uma lâmina de vidro com lamínula e observada no microscópico. O soro foi obtido através do processo de centrifugação por 10 min até 3.500 rpm, em seguida foi processado no aparelho automação, LabmaxPlenno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o exame físico, foi observado que o animal estava desidratado, inclusive com enoftalmia. As mucosas estavam hipocoradas e ictéricas. A temperatura estava normal, mas o cão apresentava prostração e escore corporal baixo. A apresentação clínica de micoplasmose é muitas vezes inespecífica, com sinais atribuídos à anemia e reações compensatórias (MANEV e MARINCHEVA, 2018). As principais queixas e manifestações clínicas são apatia, anorexia, prostração, perda de peso, vômito, diarreia, desidratação, icterícia e palidez. Tais sinais foram observados no animal do presente caso (MANEV e MARINCHEVA, 2018; CASTILHO *et al.*, 2016).

Na avaliação física foram identificados carrapatos no animal, justificando ainda mais a presença do *Mycoplasma spp.*, visto que ele pode ser transmitido principalmente pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, responsável também na transmissão de outros hemoparasitas aos cães como *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* (SOARES *et al.*, 2016).

O hemograma completo revelou anemia macrocítica hipocrômica. Nas observações foram vistas discreta policromasia (Fig. 01E), moderadas anisocitose e hipocromia, acentuada corpúsculos de Howell-Jolly (Fig. 01C), eritroblastos 02% (Fig. 01A), moderado pontilhado basofílico, discreta aglutinação (Fig. 01B) e moderada poiquilocitose com discreta esferocitose e moderada presença de hemácias fantasmas (Fig. 01D). Além disso, foram observados *Mycoplasma spp.* na membrana de eritrócitos.

Associada à presença do hemoparasita foi possível verificar a AHIM, a qual exibia regeneração marcante, visto que no esfregaço se observou policromasia, anisocitose, hipocromia, corpúsculos de Howell-Jolly, eritroblastos e pontilhado basofílico, que são indícios de regeneração. Além disso, a aglutinação, observada no teste de salina, esferocitos e hemácias

fantasmas são evidências diagnósticas de anemia hemolítica imunomediada (GORENSTEIN *et al.*, 2019; THRALL *et al.*, 2015; GARDEN *et al.*, 2019).

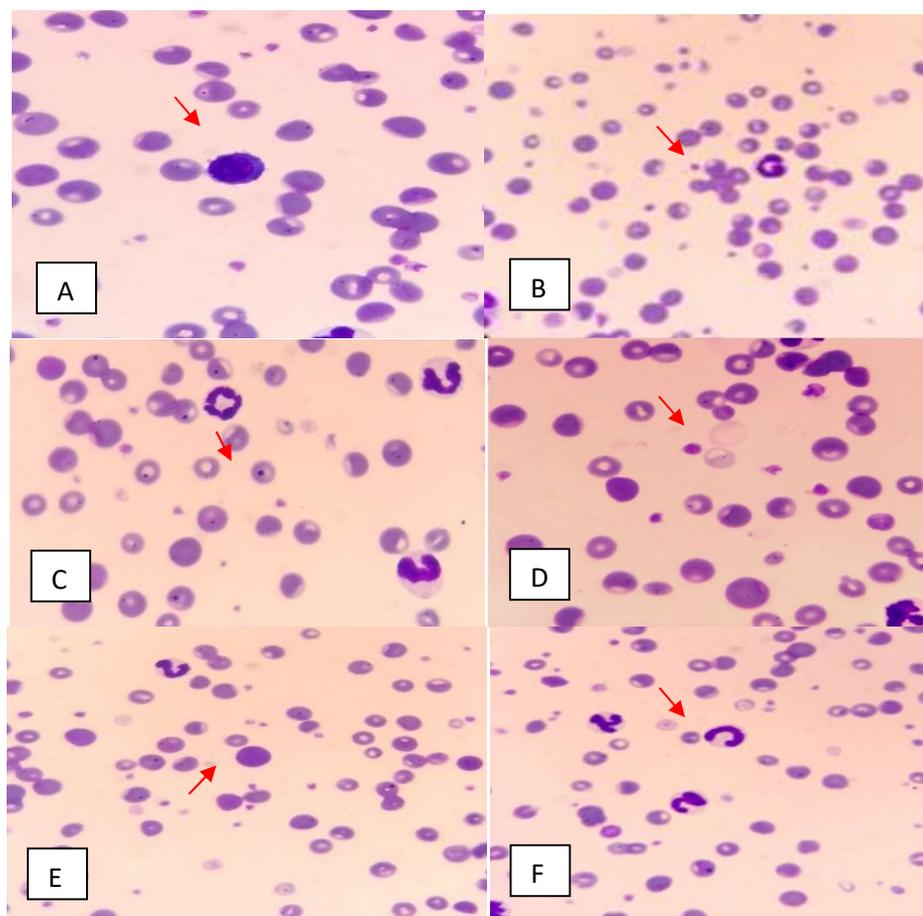


Figura 01: Características morfológicas celular do esfregaço sanguíneo de uma cadela Pit Bull, cinco meses, portadora de anemia hemolítica imunomediada (1000x).

(A) Eritroblasto (seta vermelha); (B) Aglutinação (seta vermelha); (C) Howell-Jolly na hemácia (seta vermelha); (D) Hemácia fantasma (seta vermelha); (E) Hemácia policromatófilo (seta vermelha); (F) Neutrófilo bastão (seta vermelha). (Fonte: LPCV /UECE, 2020)

Observou-se ainda uma trombocitose sem alterações morfológicas. A trombocitose é decorrente do processo inflamatório, na qual ocorre a liberação de interleucina 6 que atuará no fígado produzindo mais trombopoetina que vai agir na medula óssea aumentando o número de megacariócitos induzindo assim o aumento da quantidade de plaquetas na corrente sanguínea (THRALL *et al.*, 2015).

A leucocitose por neutrofilia com desvio a esquerda com presença de bastão (Fig. 01F) e monocitose, vista no leucograma do animal, é evidenciada devido ao processo inflamatório agudo caracterizado por ter um aumento do número de leucócitos ocasionando um aumento de neutrófilos, segmentados, bastonetes e de monócitos. Esse processo tem como causa o *Mycoplasma spp.* e a anemia hemolítica imunomediada que produz citocinas que estimulam a liberação de leucócitos para a corrente sanguínea (JERICÓ *et al.*, 2015). O plasma estava icterico e a proteína plasmática total estava dentro dos valores de referência (Tab. 01).

Tabela 01: Análise hematológica de uma cadela Pit Bull, cinco meses, portadora de anemia hemolítica imunomediada, em março de 2020.

PARÂMETROS	RESULTADOS	REFERÊNCIAS ESPÉCIE CANINA*
Eritrócitos	1.240.000	5.500.000 - 8.500.000/mm ³
Hemoglobina	2.2	12 - 18 (g/dL)
Hematócrito	11	37 - 55 (%)
VGM	88.7	60 - 77 (fL)
CHGM	26.3	32 - 36 (%)
Plaquetas	640.000	200.000 - 500.000/mm ³
Proteína Total	7,8	6.0 - 8.0 (g/dL)
Leucócitos	55,000	6.000 - 17.000/mm ³
Segmentados	48.576	300 - 11.500/mm ³
Linfócitos	2.560	1.000 - 4.800/mm ³
Eosinófilos	00	100 - 1.250/mm ³
Monócitos	3.864	150 - 1.350/mm ³

*WEISS e WARDROP (2010).

Na dosagem bioquímica sérica, o animal apresentou um aumento da creatinina e ureia. Tais alterações podem ser indícios de doença renal aguda, em razão da hipóxia renal devido à anemia grave. Influenciam ainda, a deposição de complexos antígeno-anticorpo na membrana eritrocitária e o efeito tóxico direto da bilirrubina nas células dos túbulos renais (CASTILHO *et al.*, 2016). O aumento desses análitos explica os episódios de vômitos apresentados pelo paciente. Desta maneira foi prescrito metoclopramida a qual tem uma ação antiemética (ANDRADE, 2017). Os valores encontrados de albumina, alanina aminotransferase estavam normais, pois provavelmente não houve alteração em nível hepático (Tab. 02).

Tabela 02: Resultados dos bioquímicos do paciente em março de 2020.

Analitos	Resultados	Referências – Espécie Canina*
Creatinina	2,1mg/dL	0,5 a 1,5mg/dL
Uréia	88mg/dL	21,4 a 59, 9mg/dL
Albumina	2,8g/dL	2,6 a 3,3g/dL
ALT	56,0 UI/L	21 a 102 UI/L

*KANEKO *et al.* (2008).

O soro se apresentava icterico. A anemia hemolítica imunomediada, ocasionada pelo *Mycoplasma spp.*, leva a um aumento de bilirrubina indireta devido à destruição acelerada das hemácias. Essa destruição acelerada provoca um aumento de bilirrubina na corrente sanguínea, sendo possível a visualização da icterícia no soro e nas mucosas, alterações estas identificadas no animal do caso relatado (GREENE, 2015).

Para o tratamento específico da micoplasmose foi prescrito para o animal doxíciclina suplemento vitamínico mineral e aminoácidos omeprazol e para AHIM foi prescrito

prednisolona. Foi solicitado também a internação do animal para a utilização do soro, porém o proprietário não optou pela realização do procedimento.

A doxiciclina é o fármaco de eleição para tratamento de micoplasmose (SILVA *et al.*, 2017). O omeprazol foi prescrito para proteger a mucosa gástrica e prevenir o surgimento de úlceras e outras complicações gastrointestinais. O complexo vitamínico à base de aminoácidos foi utilizado também como terapia de suporte, para auxiliar na nutrição do animal (ANDRADE, 2017). A prednisolona, é o pilar da terapia da AHIM, agindo tanto na diminuição da fagocitose como na redução da produção de imunoglobulinas (SWANN *et al.*, 2019).

A visualização do *Mycoplasma spp.* em lâmina foi imprescindível para a correlação deste hemoparasita a AHIM, já que foi possível também unir os dados da anamnese, do exame físico e dos resultados dos exames laboratoriais para o diagnóstico e prescrição do tratamento para o paciente.

CONCLUSÕES

A observação de *Mycoplasma spp.* em esfregaços sanguíneos associada às alterações morfológicas eritrocitárias são de relevante importância para o diagnóstico de AHIM, auxiliando assim na instituição da melhor conduta terapêutica, corrigindo assim as alterações hematológicas ocasionadas pelo hemoparasita e contribuindo para o melhor prognóstico do paciente.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.F. Manual de terapêutica veterinária. 1ª ed., Rio de Janeiro: Roca, p.158-159, 2017.
- CASTILHO, R.C.; LIMA, M.O.; CRUZ, M.F.R.; MARQUEZ, E.S.; CALDERÓN, C. Anemia hemolítica imunomediada em cães. Scientific Electronic Archives, v.9, n.5, p.72-85, 2016.
- GARDEN, O.A.; KIDD, L.; MEXAS, A.M.; CHANG, Y.; JEFFERY, U.; BLOIS, S.L.; FOGLE, J.E.; MACNEILL, A.L.; LUBAS, G.; BIRKENHEUER, A.; BUONCOMPAGNI, S.; DANDRIEUX, J.R.S.; LORIA, A.D.; FELLMAN, C.L.; GLANEMANN, B.; GOGGS, R.L.; GRANICK, J.L.; LEVINE, D.N.; SHARP, C.R.; SMITH-CARR, S.; SWANN, J.W.; SZLADOVITS, B. ACVIM consensus statement on the diagnosis of immunemediated hemolytic anemia in dogs and cats. Journal of Veterinary International Medicine, n.33, p.313–334, 2019.
- GORENSTEIN, T.G.; SANTOS, B.; BASSO, R.M.; TAKAHIRA, R.K. Anemia hemolítica imunomediada primária em cães – revisão de literatura. Arquivos de Ciência Veterinária e Zoologia, UNIPAR, v.22, n.2, p.71-75, 2019.
- GREENE, C.E. Doenças Infeciosas de Cães e Gatos. 4ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.674-694, 2015.
- JERICÓ, M.M.; ANDRADE NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos. 1ª ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.5498-5524, 2015.

MANEV, I., MARINCHEVA, V. Canine immune-mediated hemolytic anemia – brief review. *Tradition and Modernity in Veterinary Medicine*, v.3, n.1, p.59-64, 2018.

MELO, I.; VILLANI, M.P.S.; VICZ, L.C.; SANTOS, R.C.L.S.; FAM, A.L.A. Micoplasmose em canino doméstico – relato de caso. *Revista Eletrônica Biociências, Biotecnologia e Saúde*, v.9, n.18, p.89-97, 2017.

SILVA, T.J.; PORTO, B.S.C.; GERARDI, B. Principais causas de anemia hemolítica nos animais domésticos. *Revista Científica de Medicina Veterinária*, v.1, n.28, p.1-11, 2017.

SOARES, R.L.; ECHEVERRIA, J.T.; PAZZUTI, G.; CLEVELAND, H.P.K.; BABO-TERRA, V.J.; FRIOZI, E.; RAMOS, C.A.N. Occurrence of *Mycoplasma haemocanis* in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, Jaboticabal, v.25, n.3, p.359-363, 2016.

SWANN, J.W.; GARDEN, O.A.; FELLMAN, C.L.; GLANEMANN, B.; GOGGS, R.; LEVINE, D.N.; MACKIN, A.J.; WHITLEY, N.T. ACVIM consensus statement on the treatment of immune-mediated hemolytic anemia in dogs. *Journal Veterinary Intern Medicine*, n.33, n.3, p.1141–1172, 2019.

THRALL, M.A.; WEISER, G.; ALLISON, R.W.; CAMPBELL, T.W. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2ª ed., São Paulo: Roca, 2015. 544p.