

Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009)¹

Rafael A. Fighera^{2*}, Tatiana M. Souza², Glaucia G. Kommers²,
Luis Francisco Irigoyen² e Claudio S.L. Barros²

ABSTRACT.- Fighera R.A., Souza T.M., Kommers G., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2010. [Pathogenesis, clinical, hematological, and pathological aspects of *Rangelia vitalii* infection in 35 dogs (1985-2009).] Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitalii* em 35 cães (1985-2009). *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30(11):974-987. Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Universitário, Avenida Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil. E-mail: anemiaveterinaria@yahoo.com.br

The pathogenesis, clinical, hematological and pathological features of the natural infection by the protozoan organism *Rangelia vitalii* (canine rangeliosis) was studied in 35 dogs that died due this condition. The results allow for the following set of conclusions on canine rangeliosis: (1) causes an exclusively extravascular immune mediated hemolysis; (2) is invariably associated with some degree of hemorrhage observed at necropsy, but no always clinically apparent; (3) the clinical signs that are the hallmark of the disease are anemia, icterus and splenomegaly; (4) the main hematological aspect that establishes a clinical suspect is the development of anemia with signs of intense erythroid regeneration; (5) the three main differential diagnosis are leptospirosis, babesiosis and acute monocytotropic ehrlichiosis; (6) the main observed histopathological lesion is an association of lymphoid hyperplasia with mononuclear inflammatory reaction, predominantly plasmacytic, but occasionally granulomatous; (7) other frequently found lesions are secondary to a marked regenerative anemia; (8) large numbers of the etiologic agent can be easily demonstrate in most tissues, mainly in lymph nodes, spleen, bone marrow, heart, and tonsils.

INDEX TERMS: Diseases of dogs, hematology, hematopathology, canine rangeliosis, *Rangelia vitalii*.

RESUMO.- A patogênese e os achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção natural pelo protozoário *Rangelia vitalii* (rangeliase canina) foram estudados em 35 cães que morreram em consequência dessa condição. Os resultados obtidos permitem o seguinte conjunto de conclusões: (1) causa doença hemolítica exclusivamente extravascular e de origem imunomediada; (2) cursa invariavelmente com algum grau de hemorragia à necropsia, mas nem sempre clinicamente perceptível; (3) os principais sinais que devem chamar a atenção para a

suspeita clínica são anemia, icterícia e esplenomegalia; (4) o principal achado hematológico e que deve chamar a atenção para a suspeita clínica é a ocorrência de anemia com sinais de intensa regeneração eritroide; (5) os três principais diagnósticos diferenciais são leptospirose, babesiose e erliquiose monocitotrópica aguda; (6) a principal lesão observada é uma associação de hiperplasia linfóide com inflamação mononuclear, predominantemente plasmocitária, mas por vezes granulomatosa; (7) outras lesões frequentes são secundárias à marcada anemia regenerativa; (8) o agente etiológico pode ser facilmente encontrado, pois ocorre em grande quantidade na maioria dos tecidos, principalmente nos linfonodos, no baço, na medula óssea, no coração e nas tonsilas.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Doenças de cães, hematologia, hematopatologia, rangeliase canina, *Rangelia vitalii*.

¹ Recebido em 4 de agosto de 2010.

Aceito para publicação em 11 de setembro de 2010.

² Departamento de Patologia, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil. *Autor para correspondência: anemaveterinaria@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

A infecção por *Rangelia vitalii*, também conhecida como *nambyuvú*, “peste do sangue”, “mal do sangue”, febre amarela canina ou rangeliase canina, é um distúrbio hemolítico e hemorrágico que afeta cães no sul do Brasil (Pestana 1910a,b, Carini & Maciel 1914, Knuth & Toit 1921, Brumpt 1936, Carini 1948). Na segunda metade do século XX, essa doença foi esquecida pela comunidade acadêmica e, dessa forma, não é comentada em livros ou descrita em artigos científicos, com exceção da citação em um livro-texto de patologia e terapêutica veterinária (Manninger & Mócsy 1973) e de uma publicação em anais de congresso (Rezende 1976). Entretanto, durante todo esse período, a população de áreas rurais e os veterinários locais permaneceram convivendo com a doença, o que para muitos pesquisadores fazia parte do imaginário popular (Figuera 2007). Essa crença quase folclórica no *nambyuvú*, retratada no Rio Grande do Sul inclusive na forma de contos e músicas (Lima 1995), fez com que a doença voltasse a ser estudada, a partir de 2001, por um grupo de pesquisadores que vem trabalhando no sentido de trazer a tona vários aspectos sobre essa importante condição que afeta os cães do sul do Brasil (Krauspenhar et al. 2003a,b, Loretti et al. 2003, Spagnol et al. 2003, Loretti & Barros 2004a,b, Loretti & Barros 2005, Figuera 2007, França et al. 2010).

Um estudo retrospectivo recente, conduzido no Laboratório de Patologia Veterinária (LPV) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), demonstrou que *R. vitalii* representa a principal causa de doença hemolítica de cães necropsiados na Mesoregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (Figuera et al. 2008). Em razão disso, integrantes desse laboratório publicaram em 2003 um estudo retrospectivo com base em 11 casos da doença (Krauspenhar et al. 2003a). Esse estudo, o primeiro após cerca 50 anos de total esquecimento acadêmico, utilizou cães necropsiados no LPV-UFSM entre 1985-2003 e seus resultados revelaram várias limitações e novas dúvidas, o que ensejou um segundo estudo, dessa vez prospectivo, realizado em 24 cães com rangeliase pertencentes a essa mesma mesoregião, necropsiados nesse mesmo laboratório e conduzido entre 2003-2009. Assim, o objetivo deste trabalho é demonstrar um pouco da patogênese e muito acerca dos aspectos clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *R. vitalii*, a fim de auxiliar clínicos e patologistas veterinários no diagnóstico dessa frequente doença que acomete cães em nossa região.

MATERIAL E MÉTODOS

Os casos incluídos neste trabalho ocorreram entre 1985 e 2009 em municípios da Mesoregião do Centro Ocidental Rio-Grandense. Foram considerados apenas casos espontâneos e fatais da doença (n=35). Dados sobre 11 desses casos foram previamente publicados (Krauspenhar et al. 2003a).

Os dados clínicos foram fornecidos pelos veterinários responsáveis por cada caso quando da requisição da necropsia. Hemogramas foram realizados em 26 desses 35 cães. Dos 26 cães com hemograma, 18 tiveram seus esfregaços

sanguíneos reavaliados por um dos autores (R.A.F.). Nesses 18 casos, os esfregaços sanguíneos foram confeccionados com sangue coletado 1-3 dias antes da morte do cão e corados por panótico rápido para avaliação da morfologia das células sanguíneas.

Vários fragmentos de órgãos foram colhidos à necropsia, fixados em formol a 10%, processados rotineiramente para histologia e corados pela hematoxilina e eosina (HE). O encéfalo foi fixado inteiro e fragmentos foram processados da mesma maneira para histologia. O método de inclusão dos casos neste estudo foi a presença de zoitos no interior de vacúolos parasitóforos em células endoteliais de capilares de diferentes órgãos observados na microscopia de luz em seções coradas com HE. Não foram incluídos casos com diagnóstico clínico-hematológico e com achados patológicos característicos da doença, mas que, por terem sido previamente tratados com drogas antiprotozoários, não mais permitiam a visualização dos zoitos como descrito anteriormente.

RESULTADOS

Sinais clínicos

De modo geral, os cães aqui descritos (n=35) demonstraram uma doença aguda caracterizada invariavelmente por apatia, anorexia/inapetência e icterícia, com evolução clínica de três a 10 dias (média de 5-6 dias). A icterícia variou de leve (6/35 [17,1%]) a acentuada (21/35 [60,0%]) (Fig. 1). Em alguns casos, a icterícia foi classificada como moderada (8/35 [22,8%]). A maioria dos cães (25/35 [71,4%]) apresentava algum sinal de gastroenterite, principalmente diarreia (21/35 [60,0%]), quase sempre com sangue (17/35 [48,6%]). Alguns cães desenvolveram episódios de vômito (12/35 [34,3%]) e, conseqüentemente, desidratação (10/35 [28,6%]), de variável intensidade, mas, mais frequentemente, leve a moderada (8/35 [22,8%]) do que acentuada (2/35 [5,7%]). Hemorragias ocorreram em certos cães (10/35 [28,6%]), principalmente na forma de petéquias e sufusões na pele e mucosa oral (9/35 [25,7%]), mas também com sangramento copioso pelas orelhas (5/35 [14,3%]) ou plano nasal (3/35 [8,6%]). Outros sinais menos prevalentes incluíam: taquipneia (12/35 [34,3%]),



Fig.1. Marcada icterícia e hemorragia ao nível da gengiva superior, em cão com rangeliase.

linfadenomegalia (11/35 [31,4%]), esplenomegalia (10/35 [28,6%]), febre (10/35 [28,6%]), hipotermia (8/35 [22,8%]), emagrecimento (6/35 [17,1%]), dispneia (5/35 [14,3%]) e edema subcutâneo dos membros pélvicos (3/35 [8,6%]). Do total de casos confirmados através de exame histopatológico, em 21 (60,0%) havia suspeita clínica da doença. Nos outros 14 casos (40,0%), a suspeita clínica era de leptospirose (11/35 [31,4%]), babesiose (4/35 [11,4%]) e/ou erliquiose monocitotrófica aguda (3/35 [8,6%]).

Hematologia

No hemograma (n=26), em todos os casos, pôde-se observar anemia de intensidade variável com hematócitos entre 8% e 33%. A contagem de eritrócitos e os níveis de hemoglobina oscilaram de 1,5-3,0 milhões/mm³ de sangue e de 2,4-11,6g/dl de sangue, respectivamente. Em 20 dos 26 casos (76,9%) a anemia era macrocítica hipocrômica, com volume corpuscular médio (VCM) entre 82,7 e 108,1 fentolitros e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) entre 26,7% e 31,2%. Nos outros seis casos (23,1%), a anemia era normocítica normocrômica, com VCM entre 60,0 e 76,5 fentolitros e CHCM entre 32,2% e 35,1%. A amplitude de distribuição eritroide (RDW) oscilou entre 15 e 24. A contagem de leucócitos esteve alterada na maioria dos cães (20/26 [76,9%]). Em quase todos esses casos (18/26 [69,2%]) ocorreu leucocitose que oscilou entre 18.900 e 37.200 leucócitos/mm³ de sangue, entretanto, em alguns poucos casos (2/26 [7,7%]) ocorreu leucopenia, que oscilou entre 2.700 e 4.100 leucócitos/mm³ de sangue. A leucocitose foi sempre em decorrência do aumento moderado ou acentuado na quantidade de neutrófilos (6/26 [23,1%]), monócitos (2/26 [7,7%]) ou ambas as células (10/26 [38,5%]). Em todos os casos em que houve neutrofilia, o aumento na quantidade de neutrófilos era, em parte, decorrente de um incremento na quantidade de precursores, principalmente bastonetes e metamielócitos. Em poucos casos (4/26 [15,4%]) havia também pequena proporção de mielócitos circulantes. Em alguns casos (8/26 [30,8%]), uma linfocitose leve a moderada contribuía para a leucocitose. Trombocitopenia foi observada em aproximadamente a metade dos cães (12/26 [46,2%]); nesses casos, as contagens oscilaram entre 52.000 e 138.000 plaquetas/mm³ de sangue.

Os achados hematológicos vistos na totalidade dos esfregaços sanguíneos examinados pelo primeiro autor (n=18) caracterizavam-se por intensa regeneração eritroide. Havia acentuada policromasia e anisocitose em todos esses casos (Fig.2). Outro achado constante foi a presença de corpúsculos de Howell-Jolly (Fig.2). Normoblastemia leve a acentuada, que variou de 1 a 304 eritrócitos nucleados para cada 100 leucócitos, foi observada em todos os cães. Nesses casos, a maior parte dos eritrócitos nucleados correspondia a metarrubricitos (81%-100%), mas, em alguns casos (13/18 [72,2%]), uma proporção menor de rubricitos fazia parte da população eritroide nucleada circulante (até, no máximo, 19% dessas células) (Fig.2). Em poucos casos (2/18 [11,1%]) foram observa-

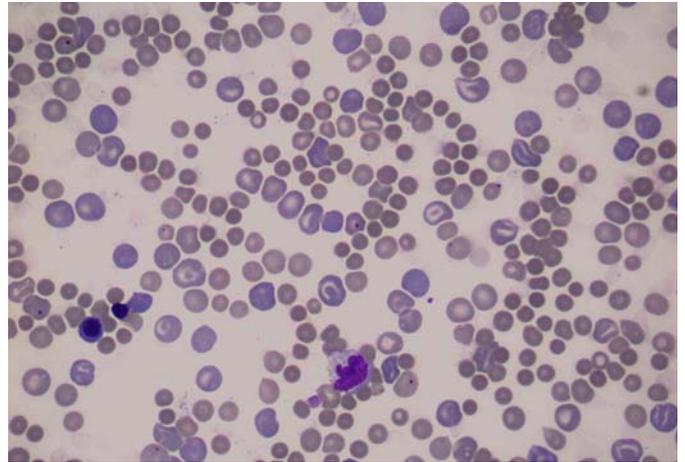


Fig.2. Esfregaço sanguíneo, com marcada policromasia e anisocitose. Note a grande quantidade de pequenos eritrócitos esféricos (esferócitos), os muitos corpúsculos de Howell-Jolly um metarrubricito e uma hematogônea. Panótico rápido, obj.40x.

dos ocasionais rubricitos em mitose. Hematogôneas eram vistas em pequena quantidade, 1-10 para cada 100 leucócitos, em todos os casos. Desses 18 sangues re-examinados, em todos o plasma era icterico (Fig.3) e em cinco (27,8%) havia algum grau de aglutinação eritroide nas paredes do tubo de ensaio quando da homogeneização. Tal aglutinação acentuava-se quando o sangue era resfriado por alguns minutos em temperatura de 4°C (Fig.4).



Fig.3. Sangue anticoagulado em tubo de ensaio. Acentuada icterícia plasmática. Observe a baixa relação do éritron em relação ao plasma, o que permite um diagnóstico macroscópico de anemia.



Fig.4. Sangue anticoagulado em tubo de ensaio. Há evidente aglutinação eritroide nas paredes do tubo de ensaio.

Um achado característico, observado em aproximadamente dois terços dos casos (13/18 [72,2%]), foi a esferocitose (presença de eritrócitos esféricos [esferócitos]) (Fig.2), que variou de leve (5/18 [27,8%]) a acentuada (8/18 [44,4%]). Em todos esses casos, pequena parte dos esferócitos tinha diâmetro muito reduzido (microesferócitos). Em alguns casos (5/18 [27,8%]) havia quantidades variáveis de eritrócitos com exacerbação da palidez central (torócitos [hipocromia]), por vezes (3/18 [16,7%]) com aglutinação central de hemoglobina, o que dava a célula um aspecto semelhante a um alvo (codócitos [codocitose]). Em todos os casos havia muitas macroplaquetas nos esfregaços.

Nos esfregaços sanguíneos de vários cães (12/18 [66,7%]) havia grandes linfócitos com núcleo redondo, não-clivado, constituído de cromatina menos agregada do que aquela vista em linfócitos maduros e com quantidade moderada de citoplasma basofílico. Esses linfócitos apresentavam anéis nucleares conspícuos, mas ausência de nucléolos, e foram interpretados como linfócitos atípicos. Nos esfregaços sanguíneos desses mesmos cães ou de outros (8/18 [44,4%]) havia linfócitos semelhantes, porém com citoplasma neutrofilico que continha três a sete grânulos pequenos (entre 0,1 e 0,2µm de diâmetro), redondos e basofílicos. Essas inclusões foram interpretadas como grânulos azurofílicos e esses linfócitos como células nulas. Nos esfregaços sanguíneos de alguns cães (5/18 [27,8%]) havia pequenos linfócitos com núcleo redondo, não-clivado e levemente excêntrico e com quantidade moderada de citoplasma intensamente basofílico, mas sem uma zona clara perinuclear (“vazio perinuclear”) evidente. Esses linfócitos foram interpretados como linfócitos plasmocitoides (células de Türk). Em pelo menos um cão (1/

18 [5,6%]) havia alguns poucos plasmócitos circulantes, incluindo plasmócitos com corpúsculos de Russel no citoplasma (células de Mott).

Nos esfregaços sanguíneos de alguns cães (11/18 [61,1%]) havia monócitos com núcleos que lembravam o formato de uma âncora e com grande quantidade de vacúolos pleomórficos em um citoplasma variavelmente basofílico. Esses monócitos foram interpretados como monócitos ativados. Em pelo menos a metade desses casos (6/18 [33,3%]), eritrócitos fagocitados podiam ser facilmente observados (eritrofagocitose).

Em poucos casos (2/18 [11,1%]) foram observados organismos em esfregaços sanguíneos. Esses organismos estavam entre os eritrócitos, eram ovais, tinham cerca de 2,0µm de diâmetro, citoplasma neutrofilico e núcleo intensamente basofílico (morfologia característica de zoítos de *R. vitalii*). Em nenhum dos esfregaços sanguíneos avaliados havia qualquer indício de hemoparasitos no interior de eritrócitos, leucócitos ou plaquetas.

Achados de necropsia

Na necropsia (n=35), todos os cães apresentavam um conjunto de lesões que caracterizava tipicamente um distúrbio hemolítico exclusivamente extravascular. As mucosas externamente visíveis (oral, ocular e genital), o tecido subcutâneo, as serosas e a íntima das grandes artérias eram variavelmente amarelas. Nos casos mais graves (19/35 [54,3%]), essa icterícia podia ser também notada na pele, na esclera, no perioste e na cápsula articular. Em cerca de dois terços dos casos (25/35 [71,4%]), o sangue era pouco viscoso (“sangue aquoso”). Todos os cães tinham baços aumentados de volume (entre cinco e 15 vezes o tamanho normal) e com bordos arredondados. A esplenomegalia foi classificada quanto à intensidade da seguinte maneira: leve (4/35 [11,4%]), moderada (15/35 [42,8%]) e acentuada (16/35 [45,7%]) (Fig.5). Ao corte, em nenhum caso fluía sangue; em todos os casos a superfície de corte tinha “aspecto carnosos”. Em aproximadamente a metade dos casos (16/35 [45,7%]) era possível observar um discreto pontilhado brancacento na polpa do órgão, macroscopicamente interpretado como hiperplasia da popa branca.

O fígado apresentava alterações macroscópicas na grande maioria dos casos (31/35 [88,6%]); essas alterações incluíam principalmente alterações na cor do órgão (25/35 [71,4%]), que assumia uma tonalidade vermelho-alaranjada, lembrando a cor de tijolos (“vermelho-tijolo”). Raramente (1/35 [2,9%]) o fígado era marrom-esverdeado. Em boa parte dos casos (14/35 [40,0%]) havia acentuação do padrão lobular, vista mais facilmente na superfície de corte (Fig.6). Aumento generalizado do fígado, caracterizado principalmente pelo arredondamento dos bordos, foi visto em vários casos (16/35 [45,7%]). Em quase todos os casos (30/35 [85,7%]) a vesícula biliar estava repleta de bile espessa, que demorava a fluir quando era realizado o teste de permeabilidade da via biliar.

Os linfonodos superficiais e profundos demonstravam variável aumento de volume (27/35 [77,1%]), mas sempre

leve (9/35 [25,7%]) a moderado (18/35 [51,4%]). Na superfície natural apresentavam, por vezes (5/35 [14,3%]), hemorragia de intensidade variável. Ao corte eram macios e

frequentemente (27/35 [77,1%]) deixavam fluir linfa. A superfície de corte, em todos os casos, era úmida e brilhante. Em alguns casos (12/35 [34,3%]), a superfície de corte



5



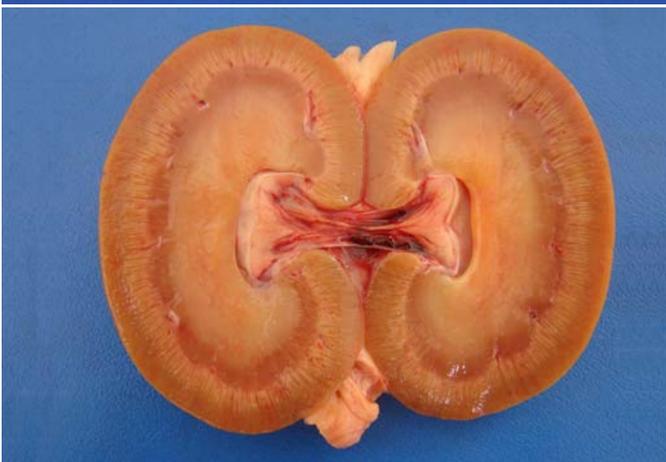
6



7



8



9



10

Fig.5. Cavidade abdominal. Note a marcante esplenomegalia em associação com icterícia, a marca registrada de qualquer doença hemolítica extravascular.

Fig.7. Medula óssea, fêmur. Hiperplasia eritroide. A porção diafisária do osso está preenchida por medula óssea vermelha. O perióstio está intensamente pigmentado por bilirrubina (icterícia).

Fig.9. Rim, superfície de corte. Marcada impregnação por bilirrubina observada tanto na cortical quanto na medular.

Fig.6. Fígado, superfície de corte. Acentuação do padrão lobular. Superfície de corte do fígado com marcação do centro do lóbulo hepático por necrose hipoxêmica.

Fig.8. Pulmão. O pulmão não colapsou com a abertura da cavidade torácica e está vermelho, úmido, brilhante e demonstra leve impressão das costelas no lobo caudal.

Fig.10. Bexiga. A urina retirada através dessa punção é amarelado-escura e límpida.

era homogênea, vermelha ou branca; já em outros casos (5/35 [14,3%]), era moteada de áreas brancas circulares ou ovais em meio a um fundo cinza-claro a marrom-claro. Esses dois padrões podiam ser vistos em diferentes linfonodos, mas ambos ocorriam em um mesmo cão.

Na maior parte dos casos em que foi examinada (24/28 [85,7%]), a medula óssea era acentuadamente vermelha e preenchia todo o canal medular do fêmur (Fig. 7). No restante dos casos (4/28 [14,3%]), a extremidade do fêmur era vermelho-escura, mas o canal medular era preenchido apenas por gordura, com uma fina linha vermelha na transição do endóstio diafisário para com a medula óssea.

Em muitos casos (21/35 [60,0%]), o pulmão não colapsava quando da abertura da cavidade torácica; a superfície natural era úmida e brilhante (Fig. 8). Esses pulmões eram pesados e permaneciam distendidos quando retirados do tórax. Ao corte, deixavam fluir grande quantidade de líquido. Nos casos mais graves (15/35 [42,8%]), havia espuma no interior da traqueia e dos grandes brônquios; essa espuma era branco-amarelada ou amarela, mas, nos casos em que já havia algum grau de autólise, a hipóstase pulmonar a tingia de variáveis tons de vermelho. Alguns casos (9/35 [25,7%]), em que havia edema pulmonar, cursavam com acúmulo de líquido límpido e amarelo-claro ou amarelo-citrino no tórax (hidrotórax). Esse líquido variava em quantidade, mas nunca ultrapassou 50ml.

Nos casos em que a icterícia era grave, os rins estavam tingidos de amarelo (12/35 [34,3%]), um aspecto, por vezes, visto mais facilmente na superfície de corte (Fig. 9). Em uma proporção menor de casos (5/35 [14,3%]), correspondendo sempre àqueles em que a icterícia era leve, os rins eram pálidos. Em raros casos (2/35 [5,7%]), os rins eram amarelo-esverdeados. Nos casos em que havia quantidade significativa de urina na bexiga (25/35 [71,4%]), ela era amarelo-escura (12/35 [34,3%]) (Fig. 10) a marrom-claro (13/35 [37,1%]), mas nunca vermelha.

Todos os cães apresentavam algum grau de hemorragia, vista com frequência muito maior nas vísceras do que nas mucosas ou na pele. A hemorragia foi classificada quanto à intensidade da seguinte maneira: leve (30/35 [85,7%]) e moderada (5/35 [14,3%]). Hemorragias nos intestinos foram um achado muito frequente (30/35 [85,7%]); tais hemorragias ocorriam como petéquias e sufusões – incluindo víbices – e afetavam a serosa e/ou a mucosa (Fig. 11). Em muitos casos (22/35 [62,8%]), o conteúdo intestinal estava tingido de sangue. Em alguns casos (12/35 [34,3%]), as fezes contidas no reto tinham estrias de sangue (3/35 [8,6%]) ou eram pastosas e negras (9/35 [25,7%]) (Fig. 11). Hemorragias pulmonares, vistas principalmente como máculas ou manchas vermelhas distribuídas aleatoriamente nos lobos pulmonares, foram muito comuns (25/35 [71,4%]). Outro local em que as hemorragias foram bastante prevalentes foi o coração (23/35 [65,7%]). Em todos os casos (23/35 [65,7%]), essas hemorragias ocorriam na forma de sufusões – incluindo víbices – e afetavam principalmente o endocárdio do ventrículo esquerdo. Tais hemorragias eram também muito comuns (16/35

[45,7%]) no epicárdio, mais concentradas nas proximidades do sulco coronário. Outros órgãos e tecidos afetados por algum grau de hemorragia incluíam: mucosa oral (12/35 [34,3%]), integumento (10/35 [28,6%]), omento (5/35 [14,3%]), pâncreas (3/35 [8,6%]), bexiga (3/35 [8,6%]), cavidade nasal (3/35 [8,6%]), estômago (3/35 [8,6%]), rim (2/35 [5,7%]), vesícula biliar (2/35 [5,7%]) e adrenal (1/35 [2,8%]).

Outros achados de necropsia menos prevalentes incluíam: 1) conteúdo gástrico mucoso e tingido de sangue (5/35 [14,3%]), 2) hidropericárdio (6/35 [17,1%]), 3) edema subcutâneo (6/35 [17,1%]), principalmente nos membros pélvicos (3/35 [8,6%]), 4) ascite leve (6/35 [17,1%]), com acúmulo de 10 a 100 ml de líquido amarelo-claro e límpido, 5) tonsilomegalia leve (6/35 [17,1%]), 6) atrofia serosa da gordura (6/35 [17,1%]), 7) necrose da gordura abdominal (5/35 [14,3%]) e 8) intussuscepção íleo-ceco-cólica (1/35 [2,8%]).

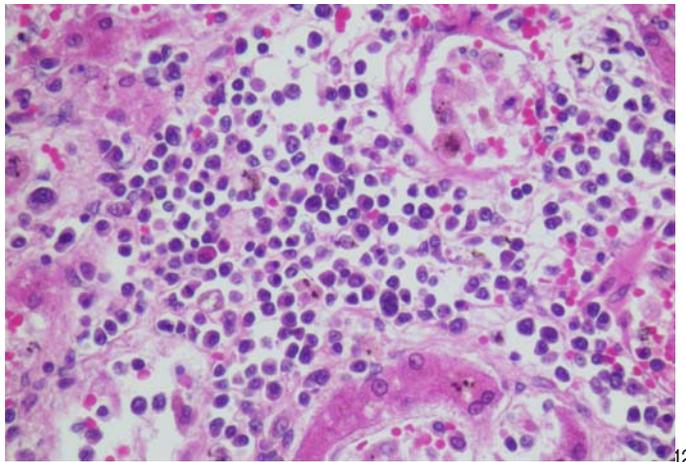
Achados histopatológicos

No geral, a doença caracterizava-se por inflamação mononuclear, predominantemente plasmocitária (Fig. 12 e 13), de intensidade variável, mas, independentemente do órgão afetado, quase sempre leve ou moderada, e apenas ocasionalmente grave. Essa inflamação podia ser vista em qualquer órgão avaliado histologicamente. No fígado (n=33), a inflamação (17/33 [51,5%]) ocorria de forma aleatória (Fig. 12), mas com mais frequência podia ser visualizada nos espaços-porta (15/33 [45,4%]), por vezes, circundando os ductos biliares. Menos frequentemente (7/33 [21,2%]), os infiltrados inflamatórios dispunham-se próximo às ou ao redor das veias centrolobulares. No rim (n=23), em todos os casos nos quais havia inflamação (17/23 [73,9%]), ela estava confinada ao córtex, era intersticial (Fig. 13) e, ocasionalmente (6/23 [26,1%]), ocorria como infiltrados perivascularares próximos à pelve. No coração (n=18), a inflamação (14/18 [77,8%]), por vezes (5/18 [27,8%]), dissecava e separava os cardiomiócitos (Fig. 14). No encéfalo (8/27 [29,6%]), a inflamação era vista ao redor dos pequenos capilares sanguíneos das meninges (3/27 [11,1%]) ou no plexo coroide (8/27 [29,6%]).

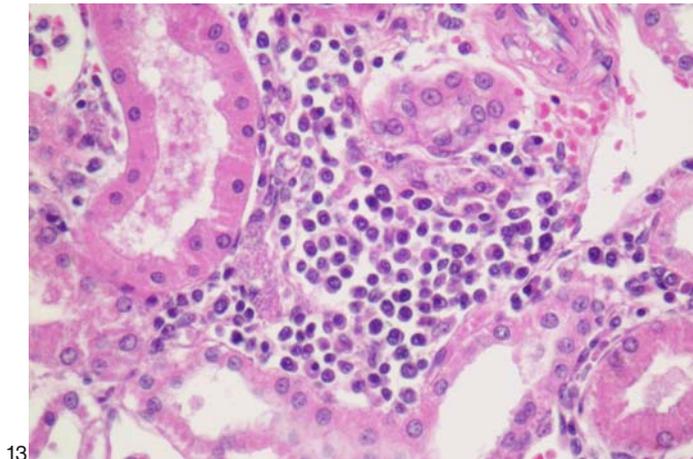
Os linfonodos (n=24) demonstravam pelo menos dois padrões de apresentação, mas um mesmo cão apresentava sempre ambos os padrões, de acordo com o linfonodo avaliado. No padrão mais comum, a hiperplasia linfóide era vista como uma acentuada proliferação linfocitária que causava “apagamento” de todo o córtex e paracórtex. A maior parte dos linfócitos vistos nesse padrão de reação nodal era pequeno, bem diferenciado e distribuía-se em um padrão sólido. Entremeados a essas células havia uma menor quantidade de linfoblastos, plasmócitos e macrófagos. Esse padrão paracortical de reação nodal foi por nós interpretado como hiperplasia linfóide difusa (Fig. 15). Menos comumente, esse mesmo padrão ocorria, mas associado a aumento no tamanho dos folículos linfóides e na quantidade de centros germinativos bem definidos. Tais centros germinativos demonstravam pequenos linfócitos com citoplasma escasso e núcleo formado por cromatina condensada com contorno clivado (centrócitos), grandes



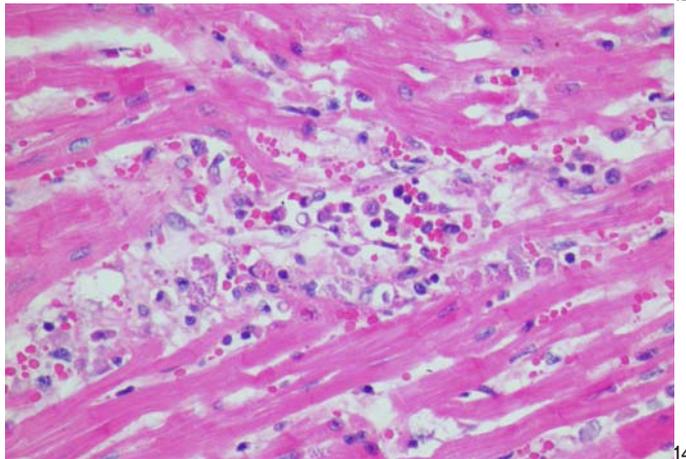
11



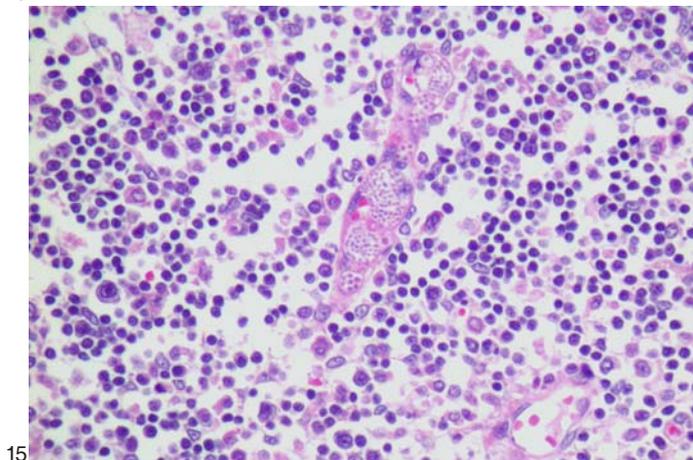
12



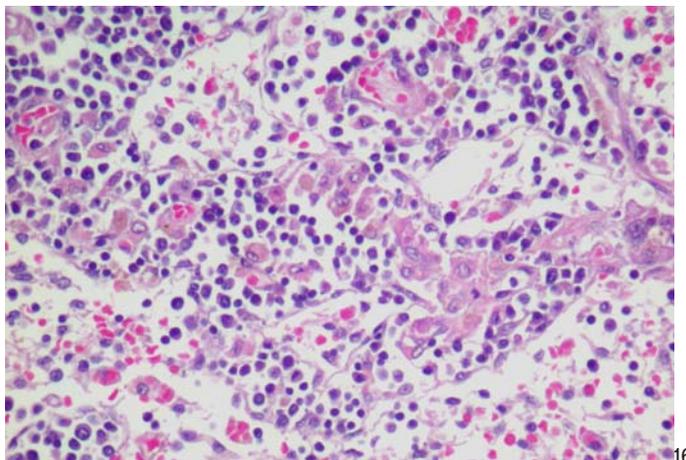
13



14



15



16

Fig. 11. Intestinos. Há múltiplas áreas de hemorragia na mucosa dos intestinos e grande quantidade de sangue digerido no final do cólon e reto.

Fig. 13. Rim. Infiltrado inflamatório mononuclear e predominantemente plasmocitário no interstício renal. Sempre que ocorre, esse padrão inflamatório é visto na cortical. HE, obj.20x.

Fig. 15. Linfonodo. Apagamento cortical por manto de linfócitos, a clássica apresentação da hiperplasia difusa. No centro da figura observa-se um capilar com muitas células endoteliais com citoplasma distendido pelos zoítos. HE, obj.20x.

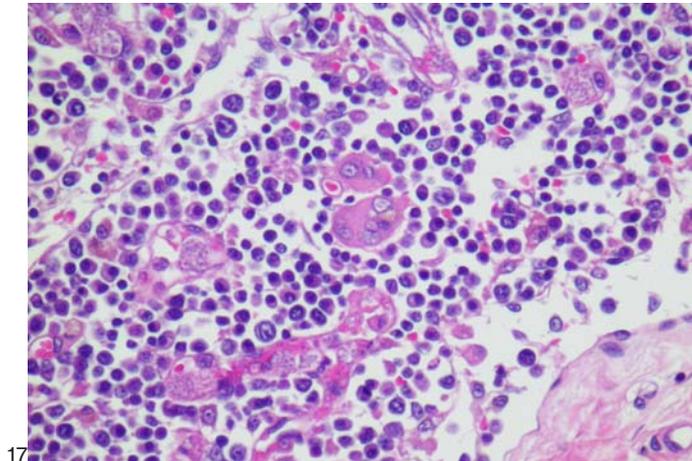
Fig. 12. Fígado. Inflamação mononuclear e predominantemente plasmocitária. Esse é o padrão histopatológico típico da rangeliose canina. HE, obj.20x.

Fig. 14. Miocárdio. Infiltrado inflamatório mononuclear que diseca os cardiomiócitos. Note que há múltiplos zoítos em algumas células endoteliais. HE, obj.20x.

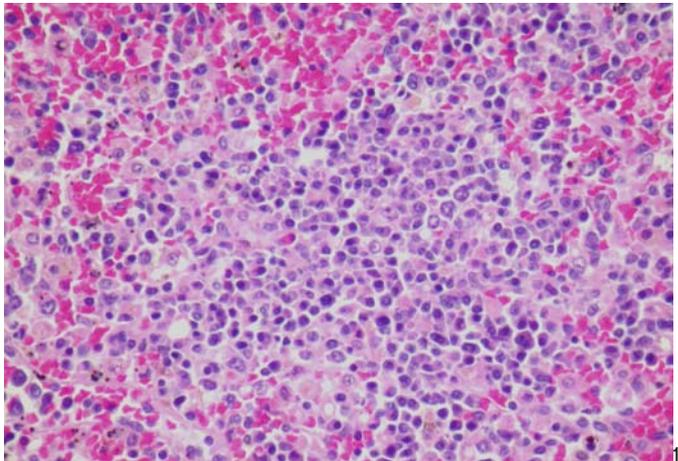
Fig. 16. Linfonodo. Inflamação granulomatosa no seio medular caracterizada pela presença de muitos macrófagos epitelioides. HE, obj.20x.

linfócitos com citoplasma abundante e núcleo formado por cromatina frouxa com vários nucléolos (centroblastos), muitos linfócitos apoptóticos e variável quantidade de macrófagos carregados de corpúsculos tingíveis. Esse padrão de reação nodal combinada foi por nós interpretado como hiperplasia linfoide mista, ou seja, hiperplasia linfoide difusa e folicular em um mesmo linfonodo. Em todos os casos havia espessamento dos cordões medulares por células mononucleares. Essas células eram predominantemente plasmócitos e seus precursores. Quantidades menores de outras células mononucleares eram sempre

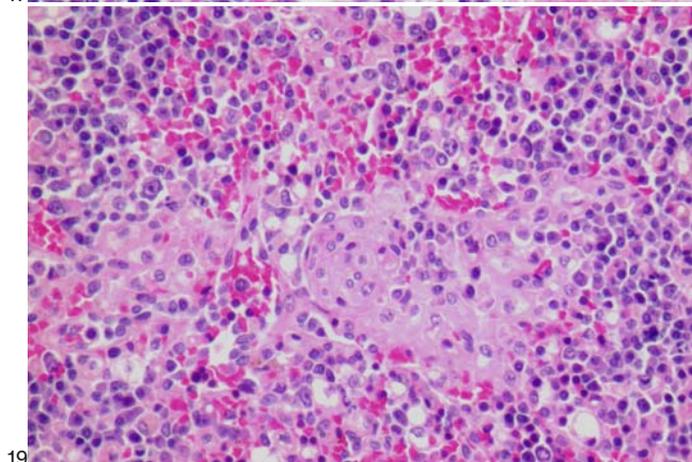
vistas nos cordões medulares, essas células incluíam, em ordem decrescente de frequência: linfócitos, macrófagos e células de Mott. Em alguns casos (5/24 [20,8%]), os cordões medulares estavam infiltrados por pequena quantidade de macrófagos epitelioides e por células gigantes multinucleadas (Fig.16 e 17). Além disso, em todos os casos, havia variável quantidade de macrófagos exercendo eritrofagia nos seios medulares. Em alguns casos (14/24 [58,3%]), esses macrófagos continham pigmento castanho-dourado no citoplasma (hemossiderina). Em todos os linfonodos avaliados eram observadas, nas células en-



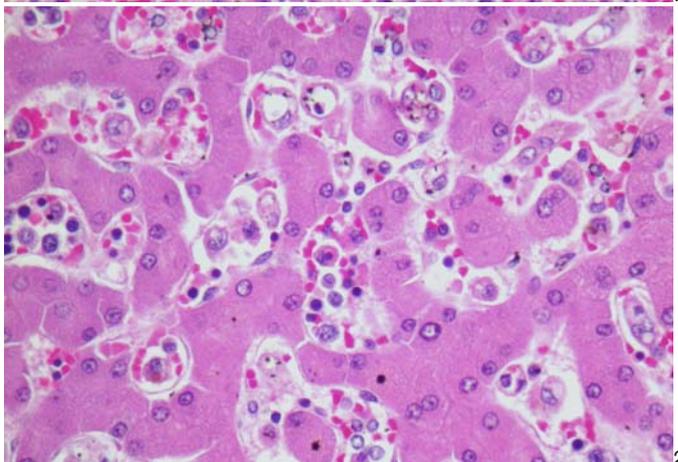
17



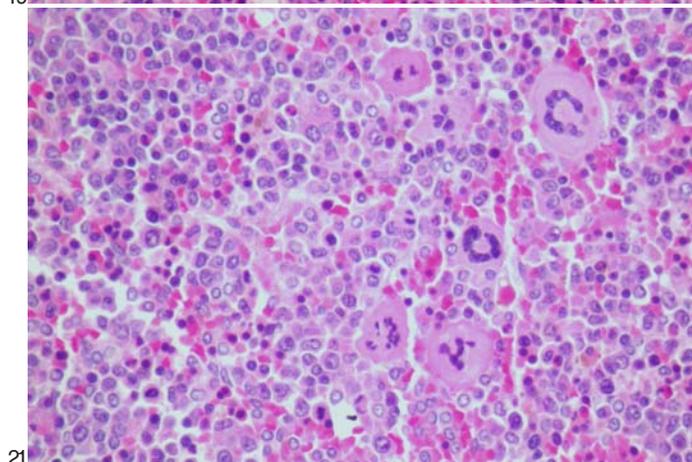
18



19



20



21

Fig.17. Linfonodo. Inflamação granulomatosa no seio medular. Observe as células gigantes multinucleadas e os zoítos em algumas células endoteliais. HE, obj.20x.

Fig.18. Baço. Presença de grande quantidade de plasmócitos na polpa vermelha. HE, obj.20x.

Fig.19. Baço. Hiperplasia do tecido monocítico-macrofágico na forma de uma bainha periarteriolar que circunda as arteríolas penicilares (elipseide). HE, obj.20x.

Fig.20. Fígado. Hiperplasia das células de Kupffer e presença de grande quantidade de precursores eritroides nucleados nos sinusoides. HE, obj.20x.

Fig.21. Medula óssea. Marcada hiperplasia trilinear caracterizada pela grande quantidade de precursores hematopoéticos e pela ausência de tecido adiposo. HE, obj.20x.

doteliais dos capilares sanguíneos, estruturas redondas ou ovais com cerca de 2,0µm de diâmetro (Fig.15). Essas estruturas, quando vistas sob imersão, tinham citoplasma azul-claro e núcleo violáceo.

No baço (n=25), o padrão de reação era sempre o mesmo e caracterizava-se por marcada celularidade da polpa vermelha. Essa celularidade aumentada se devia, em parte, à marcada proliferação de plasmócitos e seus precursores (Fig.18). Hematopoese extramedular, principalmente eritropoese e megacariocitopoese, contribuíam também para o incremento na celularidade da polpa vermelha. Nessas áreas, havia predomínio absoluto de metarrubricitos e rubricitos. Leucopoese extramedular, caracterizada por aglomerados de precursores de neutrófilos em maturação, principalmente mielócitos e metamielócitos, era vista em menor quantidade. Em alguns casos (5/25 [20,0%]), havia grande quantidade de macrófagos ao redor das arteríolas penicilares, formando uma espessa bainha periarteriolar nesses vasos (elipsoide) (Fig.19). Organismos idênticos aos descritos para os linfonodos podiam ser vistos no baço em todos os casos, mas sempre eram mais difíceis de serem encontrados, dada a maior celularidade e o predomínio de sinusoides e arteríolas, estruturas vasculares não infectadas.

O fígado (n=33) de muitos dos cães afetados demonstrava necrose de coagulação centrolobular ou paracentral (19/33 [57,6%]) e acúmulo de pigmento biliar (31/33 [93,9%]), principalmente no interior dos canalículos (29/33 [87,9%]), por vezes na forma de “trombos de bile” (12/33 [36,4%]), mas também em ductulos biliares (18/33 [54,5%]). Eritropoese extramedular de intensidade variável podia ser vista em muitos casos (23/33 [69,7%]). Quando ocorria, predominavam metarrubricitos e rubricitos, na forma de aglomerados no espaço de Disse. Alguns casos demonstravam hipertrofia de células de Kupffer (7/33 [21,2%]) (Fig.20); nesses casos era comum haver eritrofagia por parte de tais células. Organismos idênticos aos descritos para os linfonodos podiam ser vistos no fígado (14/33 [42,4%]), mas sempre eram mais difíceis de serem encontrados, à semelhança do que ocorria no baço, dado o predomínio de sinusoides e arteríolas, estruturas vasculares não infectadas.

Na medula óssea (n=9) havia acentuada hiperplasia trilinear, mas principalmente eritroide e megacariocítica, vista na forma de substituição do tecido adiposo por células hematopoéticas com alta taxa mitótica, como queda da relação mielóide/eritroide e pelo aumento da quantidade de megacariócitos e megacarioblastos, respectivamente (Fig.21). Em alguns casos havia um aumento nas populações monocítica-macrofágica (3/9 [33,3%]) e linfóide (6/9 [66,7%]) na medula óssea. Essa hiperplasia linfóide, à semelhança do que foi descrito para os linfonodos e o baço, tinha predomínio de plasmócitos e seus precursores. Organismos idênticos aos descritos para os linfonodos podiam ser vistos em todos os casos e em grande quantidade.

No rim (n=23), além da inflamação previamente descrita, em alguns poucos casos (6/23 [26,1%]) havia degeneração

e necrose tubular aguda, que afetava basicamente os túbulos contornados proximais. Em alguns desses casos e também em outros nos quais não havia necrose (12/23 [52,2%]), podia se observar variável acúmulo de pigmento castanho-dourado e granular (hemossiderina) no citoplasma de algumas células epiteliais tubulares. Organismos idênticos aos descritos para os linfonodos podiam ser vistos em muitos casos (17/23 [73,9%]) e em grande quantidade. Tais organismos ocorriam sempre nos capilares corticais e muito frequentemente nos capilares mesangiais (13/23 [56,5%]).

No pulmão (n=26), em todos os casos em que foi feito diagnóstico macroscópico de edema pulmonar, havia acúmulo de material róseo e homogêneo que obliterava a luz alveolar e, por vezes, bronquiolar. Em muitos casos (12/26 [46,2%]) havia núcleos de megacariócitos obliterando focalmente os capilares dos septos alveolares. Em alguns casos (4/26 [15,4%]), havia espessamento do septo alveolar por células mononucleares, principalmente macrófagos, por vezes exercendo eritrofagia (2/26 [7,7%]). Organismos idênticos aos descritos para os linfonodos podiam ser vistos em alguns casos (12/26 [46,2%]), basicamente nos capilares intersticiais. Broncopneumonia bacteriana secundária ocorreu raramente (2/26 [7,7%]) e foi interpretada como uma complicação decorrente do edema pulmonar.

Outros órgãos em que foram encontrados organismos idênticos aos descritos para os linfonodos incluíram: coração (18/18 [100,0%]), tonsilas (5/5 [100,0%]), intestinos (5/12 [41,7%]), estômago (3/8 [37,5%]), pele (1/3 [33,3%]), adrenal (1/3 [33,3%]) e músculo esquelético (1/3 [33,3%]).

DISCUSSÃO

Os achados clínicos e hematológicos associados às lesões observadas na necropsia são típicos de doença hemolítica aguda com ocorrência extravascular. Tais achados refletem a consequência dessa doença, ou seja, uma anemia hemolítica com sinais de intensa regeneração eritroide. Tal patogênese foi primeiramente aventada por nós no estudo anterior (Krauspenhar et al. 2003a) e posteriormente corroborada por outros autores (Loretti & Barros 2005), o que tem nos levado, nos últimos anos, a considerar essa doença como um distúrbio primariamente hemolítico e exclusivamente extravascular (Figuera 2007).

A presença de grande número de esferócitos nos esfregaços sanguíneos da maioria dos cães avaliados e a ocorrência de eritrofagocitose e aglutinação eritroide em alguns deles permite concluir que a patogênese dessa hemólise é imunomediada (HI). Esferócitos são pequenos eritrócitos perfeitamente redondos (Jain 1986, Jain 1993, Barker 2000, Harvey 2001, Fry & McGavin 2007, Jackson 2007, Thrall 2007a) que se formam pela constante fagocitose de parte de suas membranas plasmáticas (Fry & McGavin 2007, Thrall 2007a) após opsonização eritroide (Searcy 1998, Barker 2000, Fry & McGavin 2007, Thrall 2007b). Funcionalmente, os esferócitos são menos deformáveis e acabam por serem retirados gradativamente da circulação pelo sistema

monocítico-macrofágico (SMM) (Searcy 1998, Barker 2000, Fry & McGavin 2007), em um clássico mecanismo de hipersensibilidade do tipo II denominado reação dependente do complemento (Snyder 2007). Como outras causas de esferocitose são incomuns a raras em cães (Harvey 2001, Thrall 2006a,c), esse achado tem sido assim descrito por alguns autores: 1) indicativo de HI (Hawkey & Dennett 1989, Thrall 2007a), 2) fortemente sugestivo de HI (Barker 2000), 3) marca registrada da HI (Searcy 1998, Fry & McGavin 2007), 4) achado laboratorial mais útil no diagnóstico da HI (Thrall 2007c), 5) quase patognomônico de HI (Jain 1993), 6) achado típico de HI (Giger 2004) e 7) diagnóstico para HI, desde que sua presença tenha sido confirmada por um microscopista experiente (Weiser 1992). Entretanto, tal alteração morfológica pode nem sempre estar presente em cães com essa forma de anemia (Stockham & Scott 2002, Giger 2004, Jackson 2007), o que ocorreu em aproximadamente um terço dos nossos casos, à semelhança do que é aceito para HI idiopática em cães (Giger 2004). A explicação mais plausível para esse achado é que ocorra uma retirada mais rápida dos esferócitos pelo SMM do que eles possam vir a acumular-se no sangue periférico (Stockham & Scott 2002).

A probabilidade da hemólise vista nessa doença ter um componente imunomediado já havia sido aventada por nós no estudo anterior (Krauspenhar et al. 2003a), mas agora, a luz de novos casos, que demonstraram uma elevada prevalência da esferocitose e a ocorrência de autoaglutinação eritroide, outro típico achado de HI (Jain 1986, Jain 1993, Searcy 1998, Barker 2000, Giger 2004, Fry & McGavin 2007, Thrall 2007a,c), ela pôde ser definitivamente confirmada. Embora não tenhamos conseguido estabelecer exatamente como ocorre tal mecanismo, não há dúvidas que, à semelhança do que já foi confirmado para várias outras doenças hematológicas infecciosas (Figuera 2001), ocorra produção de auto-anticorpos contra a membrana eritroide.

Doenças hemolíticas infecciosas podem causar anemia por uma variedade muito grande de mecanismos, que vão desde o trauma mecânico ao espectro, como ocorre na babesiose bovina (Barros & Figuera 2008), até a deposição de antígenos sobre a superfície eritroide, uma forma de reação dependente do complemento denominada “mecanismo do espectador inocente”, como ocorre na anemia infecciosa equina (Valli 2007) e na infecção pelo vírus da leucemia murina em camundongos Nova Zelândia Pretos (Mellors et al. 1969). Uma doença que pode ser utilizada como modelo para se entender as diferentes formas pelas quais um microorganismo induz hemólise é a tripanossomíase africana (*nagana*) (Connor & Van Den Bossche 2004) e a tripanossomíase equina (*surra*) (Silva et al. 1995, Rodrigues et al. 2005) e canina (Silva et al. 1995).

Em relação à HI, agentes infecciosos, principalmente vírus, bactérias, riquetsias, micoplasmas e protozoários têm sido incriminados ao longo dos anos (Schalm 1975, Jackson & Knuth 1985, Jain 1986, Jain 1993, Figuera 2001, Giger 2004). As principais hipóteses já aventadas para

casos de doenças imunomediadas secundárias à infecção incluem reação cruzada entre antígenos de microorganismos e tecidos do hospedeiro e infecção direta de células do sistema imune, com conseqüente desvio de clones de linfócitos T auxiliares (Elson et al. 1995) ou apoptose de linfócitos B induzida por linfócitos T (Foerster 1998). Outra hipótese é que durante um processo infeccioso pode ocorrer liberação de fragmentos antigênicos de microorganismos na circulação, os quais podem vir a se depositar sobre o espectro (Giger 2004). Esse mecanismo, no qual tecidos normais são apanhados no ataque imune como “espectadores inocentes”, é bem documentado para anemia infecciosa equina (Valli 2007). Além disso, fisiologicamente, alguns antígenos eritroides estão ocultos ou em criptas e os linfócitos B só os reconhecem quando ocorre lesão da membrana eritroide, ou seja, membranas lesadas por perfuração ou adsorção de microorganismos podem levar a ativação de linfócitos autorreativos, que passam a atuar contra epítomos próprios, mas previamente escondidos (Elson et al. 1995, Foerster 1998, Giger 2004). Finalmente, eritrócitos podem passar a ser não tolerados quando microorganismos alteram seu metabolismo oxidativo (Murase et al. 1996) ou induzem acúmulo de nucleotídeos (Hosain et al. 2003), como descrito para *Babesia gibsoni* em cães.

As doenças infecciosas que cursam com hemólise imunomediada incluem: anaplasiose em bovinos (Ristic 1961, Mann & Ristic 1963, Kreier et al. 1964, Brock et al. 1965, Cox & Dimopoulos 1972) e ovinos (Uilenberg et al. 1979), micoplasmose hemotrófica felina (Zulty & Kociba 1984), micoplasmose hemotrófica canina (Bundza et al. 1976), anemia associada à infecção pelo vírus da leucemia felina (Hartmann 2006), anemia infecciosa equina (Squire 1968), babesiose em cães (Onishi et al. 1990, Adachi et al. 1995, Morita et al. 1995), babesiose em ovinos (Alani & Herbert 1988), tripanossomíase em bovinos (Murray & Dexter 1988), eperitroozoonose em suínos (Hoffmann et al. 1981), erlichiose monocitotrófica aguda em cães (Harrus et al. 1999) e leptospirose (Fry & McGavin 2007, Prescott 2007,) em bezerros, cordeiros, cabritinhos e leitões. Em humanos, hemólise imune é vista com certa frequência durante quadros de malária (Woodruff et al. 1979) e após algumas outras infecções, mas, diferentemente de animais, ocorre basicamente como doença das aglutininas frias. Essas infecções incluem principalmente pneumonia por *Mycoplasma pneumoniae*, mas também mononucleose infecciosa, parotidite infecciosa (caxumba), listeriose, sífilis e rubéola (Foerster 1998).

Embora hemorragias tenham sido muito prevalentes na necropsia e variavelmente comuns clinicamente, em nenhum caso houve diátese hemorrágica, o que, a nosso ver, desqualifica essa doença como hemorrágica. Assim, caracterizamos as hemorragias vistas nesses casos como ocorrendo basicamente de três maneiras: 1) mais comumente como parte de um quadro de gastroenterite aguda, 2) ocasionalmente como um quadro leve de púrpura e 3) menos frequentemente como copioso sangramento cu-

tâneo localizado nas orelhas (*nambiyuvú*) e/ou no plano nasal. Nesses casos, o único achado em comum, foi uma variável diminuição na quantidade de plaquetas, que oscilou de leve a moderada, mas nunca foi grave. Entretanto, dada a gravidade das hemorragias vistas em alguns cães, acreditamos que haja outros mecanismos envolvidos nesse processo. A partir do padrão morfológico das hemorragias, que denota déficit na hemostasia primária, os dois mecanismos mais prováveis de estarem associados à trombocitopenia são trombocitopenia e/ou vasculopatias. Entretanto, atualmente, não há dados laboratoriais que possam comprovar ou refutar essa hipótese.

Em relação aos diagnósticos diferenciais, a doença aqui descrita realmente assemelha-se a leptospirose, mas possui algumas diferenças marcantes e que permitem a diferenciação clínica e hematológica. Casos de leptospirose que vem sendo diagnosticados no LPV-UFSM (Figuera 2008), à semelhança do que é descrito por alguns autores (Greene et al. 2006), não cursam com esplenomegalia, pelo contrário, com frequência apresentam baço exangue, e esse deve, a nosso ver, ser um critério clínico diferenciador dessas duas doenças. Em relação aos achados hematológicos, leptospirose em cães não causa hemólise (Jones et al. 2000, Greene et al. 2006) e, assim, não há achados que indiquem anemia hemolítica no hemograma. Na necropsia, macroscopicamente, ambas as doenças guardam estreitas semelhanças, mas a presença de um baço aumentado deve sempre chamar a atenção para rangeliose. Por fim, histopatologicamente, as duas doenças são bastante distintas.

Em relação à babesiose, os achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos são muito semelhantes, mas é importante ressaltar que na infecção por *Rangelia vitalii* nunca ocorre hemólise intravascular e, consequentemente, não há hemoglobinemia nem hemoglobinúria. Assim, a presença de plasma hemoglobínico ou de tecidos embebidos por hemoglobina na necropsia descarta definitivamente *R. vitalii* como causa da doença hemolítica em um cão. Além disso, os aspectos microscópicos são de grande auxílio no diagnóstico diferencial, em que *Babesia* spp. serão encontradas nos eritrócitos e *R. vitalii* será vista em diferentes tecidos, mas exclusivamente no citoplasma de células endoteliais de capilares sanguíneos. Vale lembrar que, durante a doença clínica, pode não ser fácil encontrar *Babesia* spp. nos eritrócitos e que *R. vitalii* pode ser vista ocasionalmente no sangue (França et al. 2010, Figuera 2007), mas basicamente com localização extra-eritrocítica (Figuera 2007), entretanto, a diferenciação continua simples de ser realizada, porque as *Babesia* spp. atualmente descritas jamais ocorrem como um parasito tecidual. Essas informações, embora já conhecidas desde meados da década de 1930 (Braga 1935), parecem ter sido esquecidas, visto frequentemente os clínicos confundirem rangeliose com babesiose (Krauspenhar et al. 2003a).

Em relação à erlichiose monocitotrófica, a forma aguda dessa hemoparasitose e que ocorre como uma doença

hemolítica extravascular, pode ser semelhante, senão idêntica a doença aqui descrita. Essa semelhança refere-se à clínica, à hematologia e à patologia, inclusive aos achados histopatológicos, porém, a diferenciação dos parasitos pode ser feita com facilidade através de esfregaços sanguíneos ou nos cortes de tecido. *Ehrlichia canis* infecta monócitos circulantes (Cohn 2003, McQuiston et al. 2003) enquanto *R. vitalii* é vista extravascularmente, entretanto, recentemente, *R. vitalii* foi identificada no citoplasma de monócitos e neutrófilos de uma cão (França et al. 2010). Assim, uma identificação definitiva atualmente requer avaliação do tecido. Nesses casos, à semelhança do que foi descrito para babesiose, a diferenciação é simples de ser realizada.

Embora os sinais de regeneração eritroide tenham sido uma característica marcante em todos os casos, e em muitos desses a regeneração eritroide tenha sido confirmada histopatologicamente através da avaliação da medula óssea, alguns hemogramas não demonstraram uma típica anemia macrocítica hipocrômica. Todos esses casos cursavam com acentuada esferocitose. Tais achados demonstram que quando há concomitantemente esferocitose e policromasia, o aumento do VCM e a diminuição da CHCM dados pelo grande número de policromatófilos sofrem compensação da diminuição do VCM e do aumento da CHCM decorrentes do grande número de esferócitos. Como resultado observa-se um marcado dimorfismo eritroide, visto morfológicamente como anisocitose acentuada e quantitativamente através do aumento do índice de distribuição eritroide (RDW). O reconhecimento desse achado é fundamental, pois dá mais subsídio científico para a já tradicional afirmação de que a caracterização de uma anemia como regenerativa necessita da avaliação morfológica do esfregaço sanguíneo (Thrall 2007c), visto que muitos dos casos aqui apresentados poderiam ter sido erroneamente interpretados como anemias arregenerativas se fossem levados em conta apenas o VCM e a CHCM, pois, eram anemias normocíticas normocrômicas. Nesses casos, um achado que sempre deverá chamar a atenção do clínico para isso, mesmo quando não tiver sido realizada a avaliação morfológica do esfregaço sanguíneo, é o aumento do RDW, um achado que caracteriza dimorfismo eritroide a ser avaliado.

Os achados histopatológicos observados por nós refletem: 1) marcada anemia, 2) intensa compensação hematopoética e 3) acentuada estimulação antigênica desencadeada pelo protozoário. Em relação à anemia, a lesão mais importante por nós encontrada foi uma variável necrose de coagulação, ora paracentral, ora centrolobular, e que oscilou, quanto à gravidade, de leve a acentuada. Essa lesão reflete hipóxia celular oriunda dos baixos níveis de hemoglobina e é o típico aspecto histopatológico de um indivíduo anêmico, independentemente da causa ou duração da anemia (Valli 2007). Em relação à estimulação antigênica, a inflamação disseminada e a hiperplasia linfóide nodal e esplênica, ambas com predomínio de plasmócitos e plasmoblastos, denotam morfológicamente uma marcada resposta imune frente ao protozoário (Tizard 2002).

Em relação à causa da morte dos cães, pode-se observar que além da marcada anemia vista em quase todos os casos, muitos cães apresentavam à necropsia um comprometimento pulmonar variável, mas frequentemente extenso o suficiente para causar insuficiência respiratória e, conseqüentemente, morte. Esse comprometimento devia-se, em todos os casos, a edema pulmonar com ou sem derrame pleural. Não foi possível definir a causa do edema pulmonar visto nesses casos, mas, definitivamente, não acreditamos que ele possa ser cardiogênico, até porque a lesão cardíaca observada em alguns cães, embora muito prevalente, não foi grave o suficiente para causar insuficiência do órgão. Em cães, casos de anemia hemolítica autoimune idiopática frequentemente culminam em morte por edema pulmonar. A patogênese nesses casos é relacionada a tromboembolismo pulmonar em decorrência da terapia com glicocorticoides e a cateterização venosa prolongada (Bunch et al. 1989, Klein et al. 1989), e não pode ser aplicada para explicar os casos aqui retratados.

CONCLUSÕES

Os resultados aqui apresentados demonstram que a infecção por *Rangelia vitalii* (rangeliose canina) é um distúrbio hemolítico, exclusivamente extravascular e imunomediado. A suspeita clínica deve recair sobre esse protozoário sempre que um cão apresentar principalmente uma associação de sinais clínicos que incluem anemia, icterícia e esplenomegalia. Hematologicamente, esse diagnóstico deverá ser aventado toda vez em que ocorrer anemia macrocítica hipocrômica ou normocítica normocrômica com aumento do RDW e achados hematopatológicos indicativos de intensa regeneração eritroide. Os diagnósticos diferenciais deverão levar em conta principalmente leptospirose, babesiose e erliquiose monocitotrófica aguda, doenças das quais poderá ser distinguida através apenas de achados clínicos e hematológicos, mas, em algumas situações, com mais segurança através do exame histopatológico, visto o agente etiológico ser facilmente encontrado e ocorrer em grande quantidade na maioria dos tecidos, principalmente nos linfonodos, no baço, na medula óssea, no coração e nas tonsilas. Essas conclusões deverão nortear clínicos e patologistas no diagnóstico dessa importante doença de cães no Rio Grande do Sul.

É importante ressaltar que um criterioso estudo experimental necessita ser realizado para explicar a patogênese completa dessa infecção, principalmente em relação ao fato do agente causador induzir lesão eritroide indireta. Além disso, como a causa exata das hemorragias ainda não pôde ser definitivamente desvendada, uma avaliação hemostática sistemática e completa, mas que deverá contemplar principalmente a avaliação da hemostasia primária, precisa ser conduzida. Ademais, é necessário que a patogênese do edema pulmonar que vitima muitos dos cães com a doença seja desvendada, até para permitir uma terapia mais apropriada.

Agradecimentos.- A todos os colegas, clínicos de pequenos animais, que nos repassaram valiosas informações clínicas e hematoló-

gicas dos casos aqui descritos e frequentemente nos permitiram reavaliar hematologicamente seus pacientes, mas principalmente aos doutores Lucia Maria Silveira, Cesar Schmidt, Anelise Réquia, Wagner Schmidt, Marco Montoya, Claudete Schmidt, Cândido Fontoura da Silva, Débora Cassol e Cristina de La Corte.

REFERÊNCIAS

- Adachi K., Tateishi M., Horii Y., Nagatomo H., Shimizu T. & Makimura S. 1995. Immunologic characteristics of anti-erythrocyte membrane antibody produced in dogs during *Babesia gibsoni* infection. J. Vet. Med. Sci. 57(1):121-123.
- Alani A.J. & Herbert I.V. 1988. The pathogenesis of *Babesia motasi* (Wales) infection in sheep. Vet. Parasitol. 27(3/4):209-220.
- Barker R.N. 2000. Anemia associated with immune responses, p.169-177. In: Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. (Eds), Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Barros C.S.L. & Figuera R.A. 2008. Babesiosis, p.147-157. In: Brown C. & Torres A. (Eds), Foreign Animal Diseases. Boca Publications Group, Boca Raton.
- Braga A. 1935. Contribuição ao estudo diferencial das piroplasmoses dos cães. Boletim Veterinário do Exército 3:1-16.
- Brock W.E., Norman B.B., Kliwer I.O. & Jones E.W. 1965. Auto-antibody studies in bovine anaplasmosis. Am. J. Vet. Res. 26:250-253.
- Brumpt E. 1936. Précis de Parasitologie. Masson et C^{ie}, Paris. 500p.
- Bunch S.E., Metcalf M.R., Crane S.W. & Cullen J.M. 1989. Idiopathic pleural effusion and pulmonary thromboembolism in a dog with autoimmune hemolytic anemia. J. Am. Vet. Med. Assoc. 195(12):1748-1753.
- Bundza A., Lumsden J.H., McSherry B.J., Valli V.E. & Jazen E.A. 1976. Haemobartonellosis in a dog in association with Coombs' positive anemia. Can. Vet. J. 17:267-270.
- Carini A. & Maciel J. 1914. Sobre a moléstia dos cães, chamada Nambi-Uvú e o seu parasita (*Rangelia vitalii*). Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia 8:1-7.
- Carini A. 1948. Sôbre o ciclo de desenvolvimento exo-eritrocítico de um piroplasma de cão. Arquivos de Biologia s/v(285):49-52.
- Cohn L.A. 2003. Ehrlichiosis and related infections. Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract. 33(4):863-884.
- Connor R.J. & Van Den Bossche P. 2004. African animal trypanosomes, p.251-296. In: Coetzer J.A.W. & Tustin R.C. (Eds), Infectious Diseases of Livestock. 2nd ed. Oxford University Press, Cape Town.
- Cox F.R. & Dimopoulos G.T. 1972. Demonstration of an antibody associated anaplasmosis. Am. J. Vet. Res. 33:73-76.
- Elson C.J., Barker R.N., Thompson S.J. & Williams N.A. 1995. Immunologically ignorant autoreactive T cells, epitope spreading and repertoire limitation. Immunol. Today 16:71-76.
- Figuera R.A. 2001. Anemias hemolíticas imunomediadas, p.91-98. In: Ibid. (Ed.), Anemia em Medicina Veterinária. Pallotti, Santa Maria.
- Figuera R.A. 2007. Rangeliose. Acta Scientiae Veterinariae 35:261-263.
- Figuera R.A. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães. Tese de Doutorado em Patologia Animal, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. 171p.
- Figuera R.A., Souza T.M., Silva M.C., Brum J.S., Graça D.L., Kommers G.D., Irigoyen L.F. & Barros C.S.L. 2008. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesoregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1964-2004). Pesq. Vet. Bras. 28:223-230.
- Foerster J. 1998. Anemias hemolíticas auto-imunes, p.1284-1313. In:

- Lee G.R., Bithell T.C., Foerster J., Athens J.W. & Lukens J.N. (Eds), Wintrobe, Hematologia Clínica. 9^a ed. Manole, São Paulo.
- França R.T., Silva A.S., Paim F.C., Costa M.M., Soares J.F., Mazzanti C.M. & Lopes S.T.A. 2010. *Rangelia vitali* in dogs in southern Brazil. Comp. Clin. Pathol. 19:383-387.
- Fry M.M. & McGavin M.D. 2007. Bone marrow, blood cells, and lymphatic system, p.743-832. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), Pathologic Basis of Veterinary Disease. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Giger U. 2004. Anemias regenerativas causadas por hemorragia e hemólise, p.1880-1902. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), Tratado de Medicina Interna Veterinária: doenças do cão e do gato. 5^a ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Greene C.E., Sykes J.E., Brown C.A. & Hartmann K. 2006. Leptospirosis, p.402-417. In: Greene C.E. (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis. 1387p.
- Harrus S., Waner T., Bark H., Jongejan F. & Cornelissen A.W. 1999. Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis. J. Clin. Microbiol. 37(9):2745-2749.
- Hartmann K. 2006. Feline leukemia virus infection, p.105-144. In: Greene C.E. (Ed.), Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3rd ed. Saunders Elsevier, St Louis.
- Harvey J.W. 2001. Erythrocytes, p.21-44. In: Ibid. (Ed.), Atlas of Veterinary Hematology: Blood and bone marrow of domestic animals. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Hawkey C.M. & Dennett T.B. 1989. Normal and abnormal red cells, p.9-57. In: Ibid. (Eds), A Colour Atlas of Comparative Veterinary Haematology. Wolfe Medical Publications, Ipswich.
- Hoffmann R., Schmid D.O. & Hoffmann-Fezer G. 1981. Erythrocyte antibodies in porcine eperythrozoonosis. Vet. Immunol. Immunopathol. 2(2):111-119.
- Hosain M.A., Yamato O., Yamasaki M., Jeong J.R., Chang H.S. & Maede Y. 2003. Serum from dogs infected with *Babesia gibsoni* inhibits maturation of reticulocytes and erythrocyte 5' nucleotidase activity in vitro. J. Vet. Med. Sci. 65:1281-1286.
- Jackson M.L. & Kruth S.A. 1985. Immune-mediated hemolytic anemia and thrombocytopenia in the dog: A retrospective study of 55 cases diagnosed from 1969 through 1983 at the Western College of Veterinary Medicine. Can. Vet. J. 26:245-250.
- Jackson M.L. 2007. Erythrocytes, p.3-54. In: Ibid. (Ed.), Veterinary Clinical Pathology: An introduction. Blackwell Publishing, Ames.
- Jain N.C. 1986. The erythrocyte: Its morphology, metabolism, and survival, p.527-562. In: Ibid. (Ed.), Schalm's Veterinary Hematology. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Jain N.C. 1993. Erythrocyte physiology and changes in disease, p.133-158. In: Ibid. (Ed.), Essentials of Veterinary Hematology. Lea and Febiger, Philadelphia.
- Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. 2000. Moléstias causadas por bactérias, p.423-513. In: Jones T.C., Hunt R.D. & King N.W. (Eds), Patologia Veterinária. 6^a ed. Manole, São Paulo.
- Klein M.K., Dow S.W. & Rosychuk R.A. 1989. Pulmonary thromboembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: Ten cases (1982-1987). J. Am. Vet. Med. Assoc. 195(2):246-250.
- Knuth P. & Toit P.J. 1921. Tropen-Krankheiten der Haustiere. Leipzig Verlag von Johann Ambrosius Barth, Berlin.
- Krauspenhar C., Figuera R.A. & Graça D.L. 2003a. Anemia hemolítica em cães associada a protozoários. Medvet 1:273-281.
- Krauspenhar C., Figuera R.A. & Graça D.L. 2003b. Protozoa-related immune-mediated hemolytic anemia: Case report. Biennial Conference of the Society of Tropical Veterinary Medicine, Foz do Iguaçu, PR, p.39. (Resumo)
- Kreier J.P., Ristic M. & Schroeder W.F. 1964. Anaplasmosis. XVI. The pathogenesis of anaemia produced by infection with *Anaplasma*. Am. J. Vet. Res. 25:343-352.
- Lima M. 1995. Veterinária Campeira (Intérprete: M. Lima). Ibid. (Ed.), Com Casca e Tudo. Som Livre, Rio de Janeiro. (CD, Faixa 12)
- Loretti A.P. & Barros S.S. 2004a. Infecção por *Rangelia vitali* ("Nambiuvú, "Peste de Sangue") em caninos: revisão. Medvet 2:128-144.
- Loretti A.P. & Barros S.S. 2004b. Parasitismo por *Rangelia vitali* em cães ("Nambiuvú, "Peste de Sangue"): uma revisão crítica sobre o assunto. Arqs Inst. Biológico, São Paulo, 71:101-131.
- Loretti A.P. & Barros S.S. 2005. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. Vet. Parasitol. 134:193-213.
- Loretti A.P., Barros S.S., Corrêa A.M., Breitsamater I., Oliveira L.O., Pescador C.A., Silva N.N., Rozza D.B., Driemeier D., Araujo A.C.P. & Meireles L.R. 2003. Parasitism of dogs by *Rangelia vitali* in southern Brazil: Clinical, pathological and ultrastructural study. Encontro Nacional de Patologia Veterinária, Botucatu, SP, p.178. (Resumo)
- Mann D.K. & Ristic M. 1963. Anaplasmosis. XIII. Studies concerning the nature of autoimmunity. Am. J. Vet. Res. 24:703-708.
- Manninger R. & Mócsy J. 1973. Babesiosis del perro, p.349-353. In: Ibid. (Eds), Hutyra, Marek, Manninger, Mócsy - Patología y Terapéutica Especiales de los Animales Domésticos. 3^a ed. Labor, Barcelona.
- McQuiston J.H., McCall C.L. & Nicholson W.L. 2003. Ehrlichiosis and related infections. J. Am. Vet. Med. Assoc. 223(12):1750-1756.
- Mellors R.C. 1969. Murine leukemialike virus and the immunopathologic disorders of New Zealand black mice. J. Infect. Dis. 120:480-487.
- Morita T., Saeki H., Imai S. & Ishii T. 1995. Reactivity of anti-erythrocyte antibody induced by *Babesia gibsoni* infection against aged erythrocytes. Vet. Parasitol. 58(4):291-299.
- Murase T., Ueda T., Yamato O., Tajima M. & Maede Y. 1996. Oxidative damage and enhanced erythrophagocytosis in canine erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. J. Vet. Med. Sci. 58:259-261.
- Murray M & Dexter T.M. 1988. The anaemia in bovine African trypanosomiasis: A review. Acta Trop. 45(4):389-432.
- Onishi T., Ueda K., Horie M., Kajikava T. & Ohishi I. 1990. Serum hemolytic activity in dogs with *Babesia gibsoni*. J. Parasitol. 76(4):564-567.
- Pestana B.R. 1910a. O Nambiuvú. Revta Médica de São Paulo, Jornal Prático de Medicina, Cirurgia e Higiene, 22:423-426.
- Pestana B.R. 1910b. O Nambiuvú (nota preliminar). Revista da Sociedade Científica de São Paulo 5:14-17.
- Prescott J.F. 2007. Leptospirosis, p.481-490, within chapter written by Maxie M.G. & Newman S.J., Urinary system, p.425-522. In: Maxie M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals. Vol.1-3. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Rezende H.E.B. 1976. Sobre a validade de *Rangelia vitali* (Pestana 1910) hemoparasita de cães no estado do Rio de Janeiro. Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, RJ, p.159-160. (Resumo)
- Ristic M. 1961. Studies on anaplasmosis. III. An autoantibody and symptomatic macrocytic anaemia. Am. J. Vet. Res. 871-876.
- Rodrigues A., Figuera R.A., Souza T.M., Schild A.L. Soares M.P., Milano J. & Barros CSL. 2005. Surtos de tripanossomíase por Trypanosoma evansi em equinos no Rio Grande do Sul: aspectos epidemiológicos, clínicos, hematológicos e patológicos. Pesq. Vet. Brasil. 25:239-249.
- Schalm O.W. 1975. Autoimmune hemolytic anemia: A brief review. Canine Pract. 2:37-45.
- Searcy G.P. 1998. Sistema hemopoético, p.305-352. In: Carlton W.W. & McGavin M.D. (Eds), Patologia Veterinária Especial de Thomson. 2^a ed. Artmed, Porto Alegre.

- Silva R.A.M.S., Herrera H.M., Domingos L.B.S., Ximenes F.A. & Dávila A.M.R. 1995. Pathogenesis of *Trypanosoma evansi* infection in dogs and horses: Hematological and clinical aspects. *Ciência Rural* 25:233-238.
- Snyder P.W. 2007. Diseases of immunity, p.193-252. In: McGavin M.D. & Zachary J.F. (Eds), *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. 4th ed. Mosby Elsevier, St Louis.
- Spagnol C., Loretto A.P., Corrêa A., Pescador C., Rozza D., Conceição E., Colodel E., Oliveira R., Breitsamater I., Barros S., Oliveira L. & Driemeier D. 2003. Parasitismo em cães por *Rangelia vitalii* no estado do Rio Grande do Sul. *Salão de Iniciação Científica*, Porto Alegre, RS, p.232-233. (Resumo)
- Squire R.A. 1968. Equine infectious anemia: A model of immunoproliferative disease. *Blood* 32(1):157-169.
- Stockham S.L. & Scott M.A. 2002. Erythrocytes, p.85-154. In: Ibid. (Eds), *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Iowa State Press, Ames.
- Thrall M.A. 2007a. Morfologia das hemácias, p.65-77. In: Ibid. (Ed.), *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Thrall M.A. 2007b. Classificação e diagnóstico das anemias, p.78-83. In: Ibid. (Ed.), *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Thrall M.A. 2007c. Anemia regenerativa, p.89-113. In: Ibid. (Ed.), *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. Roca, São Paulo.
- Tizard I.R. 2002. Imunidade aos parasitas, p.312-329. In: Ibid. (Ed.), *Imunologia Veterinária: uma introdução*. 6^ª ed. Roca, São Paulo.
- Uilenberg G., Van Vorstenbosch C.J.A.H.V. & Perié N.M. 1979. Blood parasites of sheep in the Netherlands. I. *Anaplasma mesaeterum* sp. n. (Rickettsiales, Anaplasmataceae). *Vet. Quart.* 1:14-22.
- Valli V.E.O. 2007. Hematopoietic system, p.107-324. In: Maxie M.G. (Ed.), *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals*. Vol.1-3. 5th ed. Saunders Elsevier, Philadelphia.
- Weiser M.G. 1992. Os eritrócitos e os distúrbios associados, p.2243-2280. In: Ettinger S.J. (Ed.), *Tratado de Medicina Interna Veterinária: moléstias do cão e do gato*. 3^ª ed. Manole, São Paulo.
- Woodruff A.W., Ansdell V.E. & Pettitt L.E. 1979. Cause of anaemia in malaria. *Lancet* 1(8125):1055-1057.
- Zulty J.C. & Kociba G.J. 1984. Cold agglutinins in cats with haemobartonellosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196:907-910.