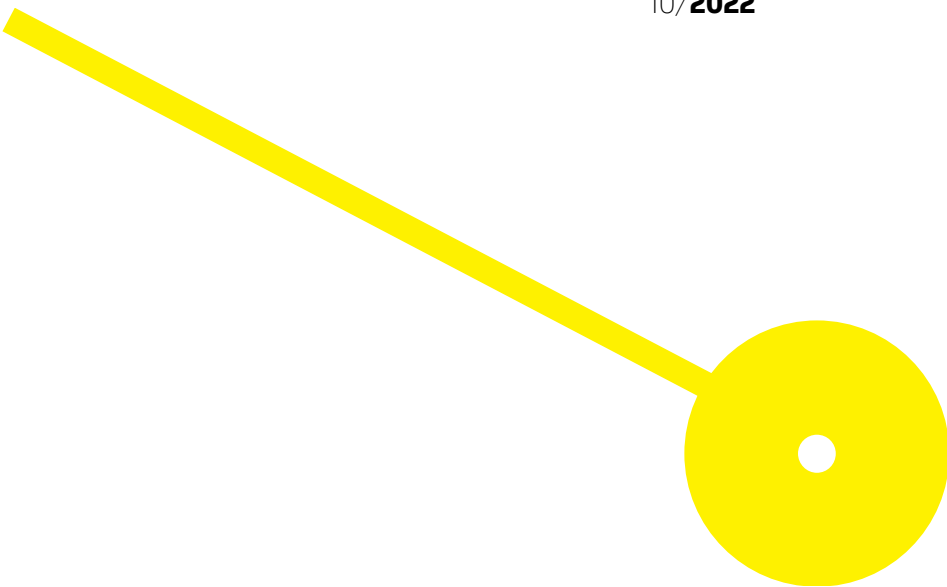




Infeções urinárias em felídeos e canídeos: etiologia e resistência aos antimicrobianos

Sonia Sara Neto Pedro

10/2022





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**



**Infeções urinárias em felídeos e canídeos: etiologia e resistência aos
antimicrobianos**

Autor

Sonia Sara Neto Pedro

Orientadores

Prof. Doutora Sandra Marlene Mota/Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA), Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Relatório de Estágio apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Ramo de especialização em Microbiologia e Saúde Pública pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Foram muitas as pessoas que contribuíram na realização deste trabalho.

A todas eu devo o meu agradecimento. Começo por agradecer a toda a equipa do laboratório veterinário Cedivet pela disponibilidade, pela simpatia, pelos conhecimentos partilhados e apoio durante o tempo de realização deste trabalho.

Gostaria de agradecer ao Hugo Carvalho pela orientação e conhecimentos transmitidos durante a realização do estágio e da elaboração deste trabalho.

Gostaria de agradecer a Professora Manuela Amorim, Professor Jorge Ribeiro e a Professora Sandra Mota, pela disponibilidade e pela orientação durante a realização deste trabalho.

Agradeço também às minhas amigas, por toda a amizade que demonstraram e por toda a ajuda e motivação que elas me deram.

Por último, gostaria de agradecer aos meus pais, às minhas irmãs, aos meus cunhados e aos meus sobrinhos, por me terem ensinado a ser quem sou, por estarem presentes sempre que foi necessário, por me motivarem a querer ser melhor e por me terem proporcionado a oportunidade de chegar aqui.

A todos, o meu Muito Obrigado!

Resumo

As infecções urinárias são das patologias mais frequentes nos animais de companhia, são geralmente causadas por bactérias e o seu tratamento depende da utilização de antimicrobianos.

Este estudo, realizado no âmbito de um estágio, teve como objetivo identificar a etiologia destas infecções em felídeos e canídeos, bem como estudar a sensibilidade aos antimicrobianos nos agentes etiológicos identificados.

Foram incluídos neste estudo 119 animais, 67 canídeos e 52 felídeos. Os agentes etiológicos mais frequentes nos canídeos foram *Escherichia coli* (44,78%), *Proteus mirabilis* (16,42%) e *Staphylococcus pseudintermedius* (10,45%). Nos felídeos foram a *Escherichia coli* (55,77%), *Enterococcus faecalis* (11,54%), e *Staphylococcus coagulase negativa* (5,77%).

Neste estudo a *E.coli*, agente etiológico mais frequente, apresenta resistência a cefalexina (1ª geração) superior a 90% quer nos canídeos quer nos felídeos. Nos canídeos, verificou-se ainda resistência a 6 dos 19 antibióticos testados nos isolados de *Staphylococcus aureus* e nos felídeos observou-se resistência a 5 dos 15 antibióticos testados nos isolados de *E.faecalis*. A determinação precisa do agente e respectivo antibiograma, é relevante não só para a saúde dos próprios animais como a nível de Saúde Pública. A escolha do antimicrobiano mais adequado para o tratamento previne o aparecimento de resistências bacterianas, um dos maiores desafios de Saúde Pública.

Palavras-chave: Urina, urianálise, bactérias, antibióticos caninos, felídeos.

Abstract

Urinary tract infections are the most frequent pathologies in pets, are usually caused by bacteria and their treatment depends on the use of antimicrobials.

This study, conducted as part of an internship, aimed to identify the etiology of these infections in cats and dogs, as well as to study the sensitivity to antimicrobials in the identified etiologic agents.

The most frequent etiologic agents in dogs were *Escherichia coli* (44.78%), *Proteus mirabilis* (16.42%) and *Staphylococcus pseudintermedius* (10.45%). In cats it was *Escherichia coli* (55.77%), *Enterococcus faecalis* (11.54%), and *coagulase negative Staphylococcus* (5.77%).

In this study, *E.coli*, the most frequent etiologic agent, showed resistance to cephalexin (1st generation) of over 90% in both dogs and cats. In dogs, resistance to 6 of 19 antibiotics was also observed in *Staphylococcus aureus* isolates, and in cats, resistance to 5 of 15 antibiotics was observed in *E.faecalis* isolates. The precise determination of the agent and its antibiogram is relevant not only for the health of the animals themselves but also for public health. The choice of the most appropriate antimicrobial for treatment prevents the emergence of bacterial resistance, one of the biggest challenges for Public Health.

Keywords: Urine, urinalysis, bacteria, antibiotics, canine, felines.

Índice

1.	Contextualização do estágio.....	2
1.1.	Serologia.....	2
1.2.	Microbiologia	4
1.3.	Análises Manuais.....	6
1.4.	Bioquímica	8
1.5.	Objetivo do estagio.....	9
2.	Infeções urinárias em felídeos e canídeos: etiologia e resistência aos antimicrobianos...10	
2.1.	Trato urinário	10
2.2.	Infecões Urinarias.....	10
2.3.	Etiologia	11
2.4.	Sintomatologia.....	12
2.5.	Diagnóstico laboratorial.....	12
2.5.1.	Métodos de colheita.....	12
2.5.1.1	Micção espontanea	12
2.5.1.2	Compressão manual.....	13
2.5.1.3	Algaliação.....	13
2.5.1.4	Cistocentese	13
2.5.2.	Processamento das amostras	14
2.5.3.	Urianálise.....	14
2.5.3.1	Sedimento urinario	14
2.6.	Urocultura e testes de suscetibilidade a antibióticos (TSA).....	15
2.7.	Tratamento.....	15
3.	Objetivos.....	17
4.	Metodologias.....	17
5.	Resultados.....	18
6.	Discussão.....	29
7.	Conclusão.....	32
8.	Referências Bibliográfica.....	33
9.	Anexos.....	37

Índice de figuras

Figura 1-Equipamento Thermo Scientific™ Multiskan™ FC	3
Figura 2-Equipamento Sysmex® XN-1000V	3
Figura 3-Equipamento Minicap Sebia	4
Figura 4-Equipamento RAL STAINER	4
Figura 5-Equipamento Biomérieux Vitek 2	5
Figura 6-Equipamento iChem® VELOCITY Urine Chemistry System.....	7
Figura 7-Equipamento Beckman Coulter AU480	9
Figura 8-Equipamento Immulite® 2000XPI	9
Figura 9-Equipamento Sysmex® CA-600 Series.....	9
Figura 10-TSA da Escherichia coli.....	20
Figura 11-TSA de Proteus Mirabilis.....	20
Figura 12-TSA de Staphylococcus pseudintermedius	21
Figura 13-TSA Staphylococcus aureus.....	21
Figura 14-TSA Streptococcus thoralensis	22
Figura 15-TSA Klebsiella pneumoniae	22
Figura 16-TSA Enterobacter cloacae complex	23
Figura 17-TSA Escherichia coli	24
Figura 18-TSA Enterococcus faecalis	25
Figura 19-TSA Staphylococcus coagulase negativa.....	25
Figura 20-TSA Enterobacter cloacae complex.....	26
Figura 21-TSA Staphylococcus simulans	26
Figura 22-TSA Pseudomonas aeruginosa.....	27
Figura 23-TSA Staphylococcus chromogenes	27
Figura 24-TSA Burkholderia cepacia	28

Índice de Quadros

Quadro 1-Descrição dos vários meios de cultura usados na microbiologia.....	5
---	---

Índice de Tabelas

Tabela 1-Relação entre os métodos de colheita e o sedimento urinário.....	18
Tabela 2-Microrganismos presentes nas culturas dos canídeos	19
Tabela 3-Microrganismos presentes nas culturas dos felídeos	23

Índice de abreviaturas

CCDA	Meio seletivo para <i>Campylobacter</i> , do inglês <i>Charcoal cefoperazone deoxycholate agar</i>
CIN	Meio seletivo para <i>Yersinia</i> , do inglês <i>Yersinia selective medium</i>
CLSI	Instituto de padrões clínicos e laboratoriais (do inglês <i>Clinical and Laboratory Standards Institute</i>)
CMI	Concentração Mínima Inibitória
CNA	Meio de Columbia (colistina +ácido nalidíxico), do inglês <i>Columbia Naladixic Acid Agar</i>
COLS	Meio de cultura <i>Columbia agar with sheep blood</i>
EDTA	Ácido etilenodiamina tetra-acético
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática, do inglês <i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
FELV	Vírus da leucemia felina
FIV	Vírus de imunodeficiência Felina
GN	Gram-Negativo
IFI	Imunofluorescência indireta
Igg	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LCR	Líquido cefalorraquidiano
MAC3	Agar MacConkey
PIF	Peritonite infecciosa felina
TP	Tempo de protrombina
TSA	Teste de sensibilidade aos antimicrobianos
TTPA	Tempo de protrombina ativada
UV	Ultravioleta
XLD	<i>Xylose lysine Deoxycholate</i>

1. Contextualização do estágio

No âmbito da unidade curricular Estágio, foi realizado um estágio curricular no Laboratório Clínico Veterinário Cedivet, no Porto, no período de 06/09/2021 a 27/11/2021.

O Laboratório Clínico Veterinário Cedivet tem como objetivo obter e fornecer resultados de elevada fiabilidade nas diversas áreas de diagnóstico laboratorial veterinário. Realiza diferentes tipos de determinações laboratoriais, nomeadamente na área da bioquímica, hematologia, microbiologia entre outras.

O Cedivet recebe amostras diariamente por duas vias. A primeira é por transportadoras, que recolhem amostras de todo o país. A segunda via é através de colaboradores do laboratório que recolhem as amostras biológicas nas Clínicas, Consultórios e Hospitais Veterinários. Todas as amostras chegam ao laboratório acompanhadas de uma requisição preenchida pelos médicos veterinários. A cada requisição e respetiva amostra é atribuído um código de barras com um número identificador, gerado no sistema informático SISLAB, que está ligado em rede aos equipamentos, fornecendo a informação necessária para a realização das análises necessárias a cada amostra.

A parte técnica do laboratório está organizado em diferentes áreas, nomeadamente Serologia, Microbiologia, Bioquímica e Análises Manuais.

1.1. Serologia

A área designada na Cedivet de Serologia é uma área automatizada onde se encontram diversos equipamentos para realização de análises serológicas, análises hematológicas, proteinogramas bem como preparação e coloração de lâminas de citologia. Nesta área diariamente é realizada a verificação dos equipamentos e respetivos consumíveis e assegurado que em todos os equipamentos os controlos de qualidade foram aprovados.

Nas análises serológicas, para as quais se utiliza como amostra o soro ou plasma é indispensável verificar que as amostras se encontram devidamente colhidas e acondicionadas. São realizadas as análises de pesquisa de antígenos do Vírus da leucemia felina (FELV) e *Dirofilaria immitis* e pesquisa de anticorpos de, *Anaplasma spp.*, *Leishmania*, *Rickettsia spp.*, *Coronavírus felino* (PIF), *Leptospira spp* Esgana IgM e IgG, *Toxoplasma gondii* IgG e IgM, *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, , vírus de imunodeficiência Felina (Fiv Ac) e *Leishmania*.

São usados dois métodos para a realização das pesquisas dos diferentes antígenos e anticorpos: o ensaio de imunoabsorção enzimática, (ELISA do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) e o método de imunofluorescência indireta (IFI).

A metodologia do teste de ELISA é baseada nas reações antigénio-anticorpo detetáveis através de reações enzimáticas. A confirmação da presença de antigénio e/ou anticorpo na amostra, é obtida através da produção de cor aquando da adição do substrato(1), fazendo a leitura no leitor de microplacas Thermo Scientific™ Multiskan™ FC (Fig. 1.)(2)



Figura 1-Equipamento Thermo Scientific™ Multiskan™ FC

O método de IFI, é baseado na ligação entre anticorpos ou antigénios com um fluorocromo, que quando excitado por radiações Ultravioleta(UV) emite luz(3). A leitura é realizada com um microscópio de fluorescência.

Para as determinações hematológicas, são utilizadas amostras de sangue total colhidas em tubos contendo anticoagulante ácido etilendiamina tetra-acético (EDTA). Após devidamente agitadas são colocadas no equipamento Sysmex® XN-1000V que através do método de citometria de fluxo fluorescente, com laser semiconductor e focalização hidrodinâmica, processa o sangue obtendo o resultado do hemograma.(4) O hemograma realizado a partir deste equipamento automático fornece informações referentes à linha eritrocitária, leucocitária, plaquetária, reticulócitos, assim como alguma informação sobre a morfologia celular. Em determinados casos é necessário a realização de esfregaço sanguíneo para avaliação microscópica. Também são realizados microhematócritos, para a determinação da percentagem de eritrócitos no sangue total.



Figura 2-Equipamento Sysmex® XN-1000V

O equipamento Minicap Sebia, aplica o princípio de eletroforese capilar em solução livre, para a realização dos proteinogramas ou electroforese de proteínas. Nesta técnica, as moléculas carregadas são separadas

através da sua mobilidade eletroforética num tampão alcalino com pH específico. Esta separação também pode ocorrer de acordo com o pH do eletrólito e do fluxo eletrosmótico. (5)



Figura 3-Equipamento Minicap Sebia

As citologias chegam ao laboratório em lâminas identificadas, sendo de seguida colocadas no equipamento RAL@ STAINER que efetua a coloração das mesmas.(6)

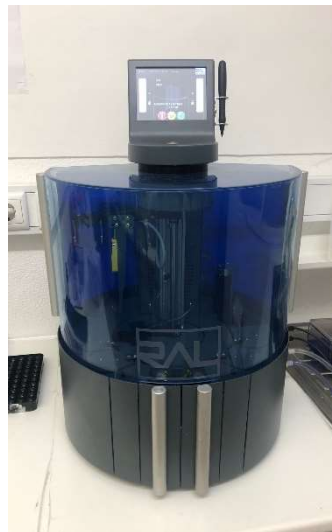


Figura 4-Equipamento RAL STAINER

1.2. Microbiologia

A área da microbiologia dedica-se ao diagnóstico de doenças infecciosas, através da identificação dos microrganismos e realização dos respetivos testes de sensibilidade.

Dependendo do tipo de amostra os meios de cultura utilizados podem ser diferentes. Como exemplo, para amostras de urina é utilizado o meio de cultura Agar Columbia com Sangue de Ovelha (COLS, do inglês *columbia agar with sheep blood*) para o exsudado nasal e auricular os meios COLS, Columbia CNA agar (CNA) e meio MacConkey (MAC3) e para outros exsudados para além dos 3 meios referidos é utilizado o caldo de carne. No caso de fezes é utilizado um caldo GN para enriquecimento seletivo, sendo no dia seguinte semeado em 4 meios: XLD (do inglês *xylose lysine deoxycholate*), MAC3, CCDA (do inglês *campylobacter ccda selective médium*) e meio seletivo para *Yersinia* (CIN, do inglês *Yersinia selective medium*). A descrição dos diferentes meios referidos encontra-se exposta no Quadro 1.

Quadro 1-Descrição dos vários meios de cultura usados na microbiologia

Meios	Descrição
COLS	Meio nutritivo que permite o crescimento da maioria dos microrganismos fastidiosos.
CNA	Meio enriquecido e seletivo Crescimento de bactérias Gram-positivo
MAC3	Meio diferencial seletivo Crescimento de bactérias Gram negativo Indicação de fermentação de lactose
XLD	Meio seletivo para isolamento de <i>Salmonella</i> e <i>Shigella</i> spp.
CCDA	Meio seletivo para isolamento <i>Campylobacter</i> spp.
CIN	Meio seletivo para isolamento de <i>Yersinia enterocolitica</i>
GN	Caldo de enriquecimento seletivo para patogênicos entéricos
Caldo de carne	Caldo nutritivo para isolamento de microrganismos não fastidiosos.

Após 24 horas de incubação todas as culturas são observadas. No caso de não haver crescimento bacteriológico, estas voltam a incubar mais 24 horas, período após o qual poderão ser consideradas sem crescimento. Nas incubações com crescimento é realizada a identificação do microrganismo e respetivo Teste de sensibilidade aos antimicrobianos (TSA).

A identificação dos microrganismos e respetivo TSA é obtido recorrendo ao equipamento VITEK 2®, que utiliza um sistema óptico que combina leituras de fluorímetro e fotômetro multicanal para registar a fluorescência, turbidez e sinais colorimétricos(7).



Figura 5-Equipamento Biomérieux Vitek 2

O VITEK 2® é um equipamento que utiliza cartas de utilização única, umas específicas para identificação e outras específicas para os TSA. A preparação destas cartas consiste na preparação de uma suspensão bacteriana a partir das colónias puras, que depois são colocadas no equipamento para ser realizada a leitura, utilizando um sistema óptico, que usa diferentes comprimentos de onda na zona do espectro visível para a realização das leituras turbidimétricas e colorimétricas. (7-9)

Para a identificação, o equipamento utiliza cartas colorimétricas contendo substratos para realização de testes bioquímicos individuais, que são incubados e interpretados automaticamente através do sistema ótico. O equipamento compara os resultados obtidos com uma base de dados tentando encontrar um microrganismo com o mesmo padrão de resultados, sendo que em alguns casos o resultado pode ser inconclusivo, ou seja pode haver duas ou mais espécies que apresentem um padrão semelhante. Nesta situação o fabricante recomenda a realização de testes manuais para a identificação. (9)

Em relação aos TSA, o equipamento utiliza cartas contendo diferentes antimicrobianos em diferentes concentrações, permitindo a determinação do valor de Concentração Mínima Inibitória (CMI) para cada antibiótico. A interpretação do resultado é feita com base nas normas de *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* classificando a bactéria como resistente, intermédio ou suscetível ao antimicrobiano.

Em certos casos o antibiograma não é possível ser realizado no equipamento VITEK 2® sendo utilizado o método manual de Kirby-Bauer.

No caso de pesquisa de fungos filamentosos, nomeadamente dermatófitos, as culturas só são rejeitadas após 21 dias de incubação por se tratar de microrganismos de crescimento lento. Quando há crescimento a identificação do fungo é realizada por microscopia, utilizando-se para isso a técnica da fita-cola e o a coloração com azul de lactofenol.

1.3. Análises Manuais

A área de análises manuais, é uma área polivalente onde são realizados os procedimentos manuais referentes à urianálise, pesquisa de parasitas nas fezes, alguns exames citológicos e testes rápidos.

A urianálise consiste num exame físico, para determinar a cor, turvação e densidade e num exame químico onde é utilizada uma tira reagente que avalia vários parâmetros, nomeadamente: pH, leucócitos, sangue, nitritos, proteínas, glicose, cetonas, bilirrubina e urobilinogénio(10). Este exame químico pode ser realizado manualmente, pela utilização da tira reagente, ou com recurso ao equipamento *iChem® VELOCITY Urine Chemistry System* que utiliza um método de leitura de refletância do comprimento de onda e gravidade específica utilizando o índice de refração. (11) Após a análise física e química da amostra de urina é realizado o exame microscópico ao sedimento urinário, no qual são avaliados diversos elementos tais como células epiteliais escamosas, transição e pélvis renal, leucócitos, eritrócitos, bactérias, cristais, cilindros, espermatozoides, gotículas de gordura e detritos.



Figura 6-Equipamento iChem@ VELOCITY Urine Chemistry System

Nesta área laboratorial é ainda realizada a pesquisa de parasitas fecais, utilizando o sistema de *ParasiTrap® System*, que permite concentrar os parasitas num sedimento para observação microscópica, permitindo procurar estruturas compatíveis com parasitas fecais incluindo ovos, cistos e larvas. (12) São também realizados testes para determinar a presença de parasitas pulmonares nas fezes, utilizando a técnica de Baermann. Este método utiliza água quente para estimular as larvas a se movimentarem, e se depositem no fundo do recipiente. (13) Nesta área são ainda realizados testes rápidos de imunocromatografia para deteção de parasitas, como *Giardia spp.* e *Cryptosporidium spp.*, e vírus, nomeadamente Parvovírus canino/felino. É ainda realizada nesta área a pesquisa de sangue oculto nas fezes.

Na área das análises manuais são ainda realizadas análises a fluídos como derrames cavitários, fluídos quísticos, fluídos articulares, lavados bronco-alveolares e líquido cefalorraquidiano (LCR). Para todos os fluídos é inicialmente feita uma análise macroscópica que avalia a cor, transparência e a presença de detritos nos fluídos, e é realizada uma avaliação bioquímica que varia consoante o fluido.

Os derrames cavitários são acumulações de fluidos em cavidades corporais (abdominal, torácica e pericárdica). Quando são provenientes de canídeos é analisada a densidade e as proteínas do fluido por refractometria. No caso dos felídeos é analisada a densidade, proteínas e albumina (método bioquímico), e realizado o teste de rivalta para o auxílio no diagnóstico de peritonite infecciosa felina. Em determinadas situações pode ser necessário realizar mais determinações, como exemplo em casos em que o fluido se apresente lipémico, são realizados análises para determinar as concentrações de triglicéridos e colesterol, para diagnóstico de efusões quilosas, e em casos onde existe suspeita de rutura urinária são determinadas as concentrações de ureia e creatinina. Para além das análises referidas, são realizados esfregaços diretos e lineares para a visualização de estruturas celulares. Quando a contagem de células é inferior a 5000 cel/ μ L é realizado *citospin*, para permitir concentrar as estruturas celulares presentes.

Nos fluídos quísticos, fluidos provenientes de massas ou quistos, é determinada a densidade e a presença de proteínas e são realizados esfregaços diretos e lineares e, quando necessário, citospin.

No caso dos fluidos articulares, provenientes das articulações, é determinada a densidade, a viscosidade e a qualidade da mucina, e são realizados esfregaços diretos e lineares.

Aos lavados bronco alveolares, fluidos provenientes do sistema respiratório, apenas é realizado esfregaço direto e um *citospin*.

Por último, no caso dos LCR, fluidos provenientes do espaço subaracnóideo do cérebro, é determinada a densidade, quantificação de proteínas, Teste de Pandy (teste qualitativo para identificação de aumento da concentração de globulinas no fluido), contagem de células e é realizado *citospin*.

Nesta área é ainda realizada a determinação do grupo sanguíneo bem como o teste de Coombs direto (auxílio no diagnóstico de anemia hemolítica de mediação imune).

1.4. Bioquímica

Nesta área laboratorial são realizadas as análises bioquímicas, de endocrinologia, provas de coagulação e monitorização de drogas terapêuticas. É ainda nesta área que se preparam as amostras que seguem para laboratórios parceiros para posterior análise de parâmetros não realizados na Cedivet (Anexo 1).

As determinações bioquímicas são realizadas no equipamento Beckman Coulter AU480 (Fig7.), que utiliza métodos de espectrofotometria e potenciometria, permitindo a realização de vários parâmetros, nomeadamente glucose, colesterol, bilirrubinas, entre outras presentes no Anexo 2.(14) As análises de endocrinologia são realizadas no equipamento Immulite® 2000 XPI (Fig.8) que utiliza a tecnologia de imunoensaio de acesso aleatório com imunoensaio de quimioluminescência amplificada por enzima.(15) Este equipamento permite a determinação de T4 total canina, T4 livre canina /felina, TSH Canina, cortisol, entre outras.

Para o estudo da coagulação é utilizado o equipamento Sysmex® CA-600 (Fig.9) que utiliza um método foto-ótico contínuo e sequencial, para realizar as análises de Tempo de Protrombina (TP), Tempo de Tromboplastina Parcial ativada (TTPA) e fibrinogénio. (16)



*Figura 7-Equipamento Beckman
Coulter AU480*



*Figura 8-Equipamento Immulite®
2000XPI*



*Figura 9-Equipamento Sysmex® CA-
600 Series*

1.5. Objetivo do estágio

O estágio realizado teve como objetivo aprofundar e desenvolver competências laboratoriais na área de análises clínicas, na vertente da veterinária, bem como desenvolver competências técnicas e interpessoais, de forma a permitir uma melhor integração na realidade profissional.

2. Infecções urinárias em felídeos e canídeos: etiologia e resistência aos antimicrobianos

As infecções bacterianas do trato urinário são uma causa de morbidade comum nas populações de canídeos e felídeos, sendo o diagnóstico laboratorial obtido através da análise microbiológica de urina. (17, 18) Estima-se que 14% de todos os canídeos contraíam uma ITU bacteriana durante a sua vida. (19)

A ocorrência de infecções urinárias em felídeos é inferior aos canídeos, sendo que tem sido reportado um aumento em ambas as espécies em alguns países europeus. Devido à elevada prevalência global as infecções, são umas das razões mais comuns para a administração de antimicrobianos nestes animais.(20) Nos casos em que a sua administração é realizada de forma inadequada pode desencadear uma grande variedade de problemas de saúde para os animais, assim como problemas para a saúde pública com o desenvolvimento de resistências antimicrobiana.(18)

2.1. Trato urinário

O trato urinário é composto por dois rins, dois ureteres, uma bexiga e uma uretra.(21)

A principal função dos rins é a produção de urina, sendo esta responsável pela regulação e composição dos fluidos corporais e pela excreção de substâncias tóxicas ou não utilizadas pelo organismo. (21)

A manutenção da homeostase do corpo é a função mais importante dos rins. Através das funções de filtração, reabsorção e secreção, os rins são capazes de devolver as substâncias úteis para a circulação e excretar os produtos residuais na urina.(21)

Depois da formação da urina, esta é transportada pelos ureteres para a bexiga, que tem a função de receber, armazenar e libertar a urina. Como a produção de urina é constante a função de armazenamento da bexiga é muito importante pois evita a constante excreção da urina pelos animais.(21)

A excreção da urina é realizada pela uretra, que transporta a urina da bexiga para o meio externo, nas fêmeas a uretra apenas tem a função de excreção urinária. Nos machos para além de ser responsável pela excreção da urina também tem a função reprodutiva, pois é utilizada pelo sistema reprodutor para a ejaculação.(21)

2.2. Infecções Urinárias

O trato urinário é geralmente um ambiente estéril, sendo as infecções maioritariamente causadas pela migração ascendente dos agentes infecciosos, pelo trato urinário, provenientes da própria flora dos locais adjacentes(20, 22) No entanto, existem mecanismos de defesa contra este tipo de infecções, nomeadamente o comprimento da uretra, existência de zonas de alta pressão presentes na mesma,

pregas longitudinais na uretra proximal que conseguem aprisionar as bactérias, peristalmo que desencadeia um fluxo unilateral de urina, bem como o esvaziamento da bexiga, fundamental para a expulsão de bactérias. Estes mecanismos são acompanhados pelas barreiras de defesa da mucosa que evitam a migração e colonização de bactérias. Estas consistem numa camada de glicosaminoglicanos, anticorpos, propriedades antimicrobianas intrínsecas da mucosa e exfoliação do epitélio. Também a composição da urina confere uma ação bactericida devido à sua acidez, alta concentração de ureia e elevada densidade. (23, 24)

Uma infecção do trato urinário pode estar associada a alterações no trato urinário ou a um sistema imunitário comprometido, permitindo a permanência e multiplicação do agente infeccioso.(20)

Um dos fatores associados ao desenvolvimento de infecções é o aumento da idade dos animais que predispõe para fragilidades no seu sistema imunitário tornando-os mais susceptíveis a infecções. Outro fator é o sexo, sendo as fêmeas mais susceptíveis que os machos. A principal explicação apontada para esta diferença é o menor comprimento da uretra nas fêmeas.(25-27)

Também a questão do peso pode aumentar a probabilidade de infecção, no caso de animais com condições corporais baixas, a má nutrição pode provocar vulnerabilidades nos animais levando ao aumento do desenvolvimento de infecções.(26, 28)

Nos animais que sofrem de obesidade mórbida, a probabilidade de infecções aumenta devido a diminuição de mobilidade, que está relacionada com a presença de artroses. Esta condição pode diminuir a frequência de esvaziamento da bexiga, pela dificuldade em andar. Outra explicação é a existência de pregas de pele nas bases das caudas e perineal, que são zonas com presença de bactérias, que podem ascender causando infecção.(29, 30)

Alterações anatómicas ou doenças que comprometam a micção ou que causem retenção urinária também são fatores que aumentam o risco de infecções, assim como doenças que comprometam o sistema imunitário, ou alterem a composição da urina dos animais.(26, 31, 32)

A localização das infecções pode ser diferenciada entre trato urinário superior que é composto pelos rins e ureteres e trato urinário inferior composto pela bexiga, uretra e vagina, no caso das fêmeas.(20)

2.3. Etiologia

As bactérias são os principais microrganismos responsáveis pelas ITUs em canídeos e felídeos, contudo podem ser também causadas por vírus e fungos.(20)

As ITU fúngicas são incomuns nos canídeos e felídeos. As ITU de etiologia viral são desconhecidas, embora tenham sido incluídas como causas de doenças do trato urinário inferior.(19)

À semelhança das ITUs no Homem, varios estudos indicam a *Escherichia coli* como o agente etiológico mais comum nos canedios e felídeos, sendo responsavel por cerca de 30 a 40% das infecões urinarias, seguida de *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.* e *Enterococcus spp.*(33-37)

2.4. Sintomatologia

A maioria dos animais com infeções apresentam sinais clínicos associados às alterações do trato urinário inferior, tais como hematuria, polaquiúria, estrangúria, incontinência, entre outros. No caso da infeção se localizar no trato urinário superior, podem ocorrer sintomas como febre, dor abdominal e piúria. No caso de animais com patologia sistémica ou com os mecanismos de defesa comprometidos, os sinais clínicos podem estar associados a essa patologia e a infeção urinária ser assintomática. (24)

2.5. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico das infeções urinárias é realizado com base nas informações obtidas pela história clínica, exame físico, urianálise, urocultura e TSA. Através das informações obtidas durante o diagnóstico clínico e laboratorial, é possível classificar e determinar se estamos perante uma infeção no trato urinário inferior ou superior e escolher a terapêutica mais adequada. (17)

Na recolha da informação sobre a história clínica do animal é importante a recolha de informações relacionadas com possíveis alterações na dieta assim como a alteração do ambiente do animal, ITU anteriores, possíveis doenças e medicações administradas. (28, 38)

2.5.1. Métodos de colheita

Para o diagnóstico laboratorial da infeção urinária é fundamental a colheita de uma amostra de urina de qualidade e sempre que possível antes da administração da terapêutica antimicrobiana. (25)

São vários os métodos para a colheita de amostras de urina: micção espontânea, compressão manual, algaliação e cistocentese. O método de colheita da amostra pode influenciar o resultado obtido devido a contaminações que podem ocorrer no processo de colheita. (22)

2.5.1.1 Micção espontanea

A micção espontânea, é um método que não representa qualquer risco para o animal, mas em contrapartida é um método onde podem ocorrer contaminações da amostra, não sendo por isso recomendado para a realização de cultura urinária. Estas contaminações podem ocorrer por bactérias da pele, pelos, por contaminantes do meio ambiente ou por bactérias da flora do trato geniturinário inferior. (22, 25)

Para além das possíveis contaminações estas amostras contêm ocasionalmente níveis de leucócitos elevados, devido a inflamações ou lesões no trato urinário. (25)

2.5.1.2 Compressão manual

A compressão manual, consiste em fazer pressão na bexiga do animal. A compressão deve ser realizada com o animal de pé ou deitado lateralmente, aplicando uma pequena e constante pressão na bexiga, para estimular a micção. A pressão exercida na bexiga pode ocasionalmente levar ao aumento da contagem de eritrócitos na urina. (25)

Este método não deve ser utilizado em animais que tenham alguma obstrução ou que tenham as paredes da bexiga frágeis, pois a pressão exercida para estimular a micção pode causar trauma. (25)

À semelhança da micção espontânea há uma grande percentagem de contaminações. (22) As amostras provenientes da compressão manual não são, por isso, as mais indicadas para a realização de cultura urinária. (25)

2.5.1.3 Algaliação

A algaliação é a colheita de urina diretamente da bexiga. Neste método é possível reduzir o número de contaminações através da realização do procedimento com os cuidados de assepsia necessários. Em contrapartida este método pode causar trauma e infeção no animal. Desta forma este método não deve ser repetido desnecessariamente. (20)

Para este processo é necessária uma limpeza do canal urinário do animal, para a introdução do cateter esterilizado, prevenindo a contaminação do trato urinário. (25)

Este método de colheita permite a realização da cultura urinária, pois, a probabilidade de haver uma contaminação na colheita é reduzida. (25)

2.5.1.4 Cistocentese

Na cistocentese é inserida uma agulha na bexiga do animal, sendo o método aconselhado para colheita de urina, uma vez que se obtém uma urina de forma estéril. Este método apresenta desvantagens, é necessário que a bexiga seja palpável e o procedimento deve ser realizado com o maior cuidado possível, para não haver vazamento da urina para o abdómen, e não causar dano ao animal. (22)

Este método só deve ser realizado em animais, calmos ou fáceis de controlar, e em animais que contenham uma bexiga palpável para ser facilmente isolada, evitando danos em outros órgãos. (25)

2.5.2. Processamento das amostras

As amostras devem ser colocadas em recipiente estéril, e devem ser processadas dentro de 30 minutos após a colheita. Quando não é possível o seu processamento neste período, as amostras devem ser refrigeradas, até serem processadas, não ultrapassando as 12 horas de refrigeração de forma a não comprometer os resultados. (22)

2.5.3. Urianálise

A urianálise é um exame simples, rápido e económico, que providencia aos veterinários informações sobre o estado do sistema urinário, do sistema metabólico, do sistema endócrino e do estado de hidratação dos animais.(25)

O exame de urina consiste na avaliação da cor, turvação, densidade, análise química e exame microscópio do sedimento urinário. (39)

As análises químicas são realizadas através do uso de sistema de tiras reagente, onde obtemos resultados para o pH, glicose, cetonas, bilirrubina, sangue e proteínas.(39)

Através destas avaliações podem ser detetadas anormalidades que podem indicar várias doenças, que podem envolver diferentes órgãos.(25)

Este tipo de avaliação deve ser usado em conjunto com a história clínica do animal para a obtenção do diagnóstico.(39)

Para assegurar a qualidade das amostras, todas devem ser identificadas e manuseadas devidamente, sendo que a urianálise é um teste que deve ser processado o mais rápido possível.(25)

2.5.3.1 Sedimento urinario

O sedimento urinário avalia o número e o tipo de células que se encontram na urina. No sedimento é possível observar leucócitos, eritrócitos, bactérias entre outras células. (22)

Quando no sedimento são visualizados leucócitos pode significar que o animal em questão está a combater uma infeção, dessa forma é espectável que a urocultura seja positiva, o mesmo acontece quando são visualizadas bactérias no sedimento. (22)

A observação do sedimento pode fornecer evidências de inflamação, infeções e até mesmo hemorragias, podendo ainda indicar que o animal esteja a sofrer de outros tipos de patologias. (39)

2.6. Urocultura e testes de suscetibilidade a antibióticos (TSA)

O exame de urocultura seguido do TSA, são considerados imprescindíveis, pois confirmam a existência de bacteriúria, identificando a/as bactérias responsáveis, e determinam a terapêutica mais adequada. Tal como anteriormente referido, o método de colheita pode influenciar os resultados das culturas. Assim, é importante constar no pedido de análise qual o método de colheita utilizado para obtenção daquela amostra. (40)

As amostras de urina mais indicadas para a realização de urocultura são amostras colhidas por cistocentese ou algaliação. As urinas podem ser semeadas, pela técnica convencional de cultura quantitativa, em meios de gelose de sangue, que permitem o crescimento da maioria dos microrganismos, e no meio MacConkey que é um meio diferencial e seletivo que permite o crescimento de bactérias Gram negativo.

Em amostras colhidas por cistocentese é considerada bacteriúria se se obter $\geq 10^3$ unidades formadoras de colónias por ml (UFC/ml). Em amostras colhidas por algaliação são consideradas significativas as contagens $\geq 10^4$ UFC/ml em machos e $\geq 10^5$ UFC/ml em fêmeas. As colheitas por micção espontânea não são recomendadas para a urocultura pois apresentam risco de contaminação, no entanto quando utilizadas é sugerido que apenas as contagens $\geq 10^5$ UFC/ml em cães e $\geq 10^4$ UFC/ml em gatos sejam significativas. (19, 40-42)

Após crescimento bacteriano significativo é realizada a identificação do agente, bem como o TSA. Estas determinações podem ser realizadas de forma automatizada utilizando equipamentos como o VITEK2®.

Os TSA permitem avaliar *in vitro* a sensibilidade das bactérias a um determinado antimicrobiano. Assim, quando uma bactéria é classificada como suscetível significa que a probabilidade de sucesso de tratamento com esse fármaco é elevada (80%). No caso de ser classificada como intermédio, existe a hipótese de sucesso. Se as bactérias forem classificadas como resistentes a determinado antibiótico é provável que não ocorra sucesso terapêutico com a administração do mesmo. (17)

2.7. Tratamento

No tratamento das infeções urinárias bacterianas são frequentemente utilizados antimicrobianos, o sucesso terapêutico está relacionado com a sua utilização adequada. Os antimicrobianos incluem os antibióticos, que são produzidos por organismos vivos, e outros compostos sintéticos e semissintéticos, onde todos partilham a função de reduzir a presença de microrganismos no local da infeção. (43)

Os antimicrobianos podem ser classificados pelas suas características sendo elas, os mecanismos de ação, o seu efeito na multiplicação das bactérias e o espectro de ação. Os mecanismos de ação são a inibição da síntese da parede celular, da síntese proteica, da síntese dos ácidos nucleicos, da síntese do

ácido fólico e da função da membrana celular. Quanto ao efeito na multiplicação das bactérias os antimicrobianos podem ser bacteriostáticos ou bactericidas. E o espectro ação pode ser alargado ou restrito. (43, 44)

A escolha do antimicrobiano deve ser realizada após a realização de TSA. Contudo, em situações onde existe a necessidade de iniciar o tratamento para aliviar os sinais clínicos do animal, é realizada uma recolha de informação sobre os agentes etiológicos mais frequentes, sobre as suas resistências intrínsecas e adquiridas, assim como a frequência da resistência local para facilitar a escolha do antimicrobiano empírico mais adequado. (17, 33, 40)

A resistência intrínseca, primária ou inata, relata o estado de insensibilidade de uma bactéria a um antimicrobiano específico ou a uma classe. A resistência intrínseca é uma propriedade da bactéria, sendo específica para o género ou espécie da bactéria. (45)

Essa resistência é devida à ausência ou inacessibilidade de estruturas alvo nas bactérias, como por exemplo a resistência aos β -lactâmicos e glicopeptídeos das bactérias sem parede celular ou a resistência à vancomicina das bactérias Gram negativo pelo facto de não ser capaz de penetrar a membrana exterior. A presença de sistemas de efluxo ou produção de enzimas inativadoras específicas de algumas bactérias estão também na base de resistências. (46)

As resistências adquiridas são propriedades específicas das estirpes, que podem derivar da aquisição de novos genes de resistência ou de mutação dos genes celulares, podem ser diferenciados em três tipos de mecanismos de resistências, (1) a inativação enzimática por desintegração ou modificação química do antimicrobiano, (2) a acumulação intracelular reduzida por decréscimo do influxo e ou acréscimo de efluxo de antimicrobiano, e (3) modificação das zonas-alvo dos antimicrobianos na célula bacteriana. (45)

As resistências aos antimicrobianos em animais de companhia tem vindo a aumentar representando um problema, pois limita as opções terapêuticas. Estas resistências são, em grande parte, resultado da prescrição de antimicrobianos de forma incorreta. (47)

Num estudo realizado a nível europeu, que contou com a participação de 14 países, constataram que todas as bactérias isoladas nas uroculturas, dos países do sul (Itália, Grécia, Portugal e Espanha) apresentam maiores níveis de resistências aos antimicrobianos estudados, sendo eles a Amoxicilina/ ácido clavulânico, cefalosporinas de 3ª geração, fluoroquinolonas, gentamicina e trimetoprim-sulfametaxazol, quando comparados com os países do Norte (Dinamarca e Suécia). Estas diferenças podem estar relacionadas com os regulamentos rígidos e vigilância da prescrição de antimicrobianos implementados nos países nórdicos, podendo ser uma estratégia a implementar nos países do sul para a redução das resistências aos antimicrobianos. (48)

3. Objetivos

Os objetivos deste estudo foram identificar a etiologia das infeções urinárias em felídeos e canídeos, bem como estudar a sensibilidade aos antimicrobianos nos agentes etiológicos identificados.

4. Metodologias

Foi realizado um estudo observacional descritivo transversal. Para tal recorreu-se ao sistema informático Sislab, para consulta e recolha dos resultados de uroculturas e sedimentos urinários de canídeos e felídeos de Portugal continental e ilhas. Foram incluídos neste estudo todos os resultados de amostras que chegaram ao laboratório entre 01-10-2021 e 12-11-2021.

Foram excluídos os resultados de casos em que não foi fornecida informação sobre o sexo do animal, idade ou quando as uroculturas foram negativas.

Os resultados foram obtidos através dos procedimentos implementados no laboratório Cedivet. A urocultura foi realizada pela técnica convencional de cultura quantitativa em meio de gelose de sangue, sendo as culturas positivas posteriormente identificadas e realizado o TSA utilizando o equipamento VITEK 2®. Para a interpretação dos resultados de TSA foram utilizados os critérios interpretativos americanos do *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

Os sedimentos urinários foram obtidos através da centrifugação de 5-10 mL de urina a 2800rpm, durante 5 min e posteriormente observados ao microscópio.

5. Resultados

O estudo incluiu registos analíticos de 119 animais, dos quais 67 eram canídeos, 40 fêmeas e 27 machos, com uma média de idade de $8,5 \pm 4,4$ anos. Dos 52 felídeos, 30 eram fêmeas e 22 eram machos, com uma média de $8,2 \pm 4,9$ anos.

Na tabela 2 podemos observar os resultados dos sedimentos urinários dos animais presentes neste estudo, onde foram observadas células epiteliais escamosas, células epiteliais de transição, leucócitos, eritrócitos, cristais de estruvite, cristais de bilirrubina, cristais de urato de amónia, cristais de oxalato de cálcio, cristais amorfos, gotículas de gordura, espermatozoides e detritos.

Tabela 1-Relação entre os métodos de colheita e o sedimento urinário

	Algaliação	Cistocentese	Compressão vesical	Micção espontânea	Não definido	Total (n=119)
<i>Células epiteliais escamosas</i>	7	60	2	36	14	100%
<i>Células epiteliais transição</i>	7	60	2	36	14	100%
<i>Eritrócitos</i>	7	48	2	21	7	71,4%
<i>Leucócitos</i>	3	47	3	9	9	59,7%
<i>Cristais de estruvite</i>	2	12	2	5	3	20,2%
<i>Cristais de oxalato de cálcio</i>	0	4	0	1	0	4,2%
<i>Cristais amorfos</i>	0	2	0	0	3	4,2%
<i>Cristais de bilirrubina</i>	0	2	0	0	0	1,7%
<i>Cristais de urato de amónia</i>	0	1	0	0	0	0,8%
<i>Gotículas de gordura</i>	0	1	1	1	0	2,5%
<i>Espermatozoides</i>	1	1	0	1	0	2,5%
<i>Detritos</i>	0	0	0	1	1	0,8%

Pela análise da tabela 2 verifica-se que em todas as amostras (n=119) foram observadas células epiteliais escamosas e de transição e em 59,7% das amostras foram observados leucócitos. Relativamente aos

métodos de colheita observa-se maior número de células (células epiteliais escamosas e de transição, eritrócitos e leucócitos) e cristais em amostras colhidas por cistocentese.

Nos canídeos o microrganismo mais frequentemente isolado foi a *Escherichia coli* com 44,78%, seguida de *Proteus mirabilis*, 22,39% e *Staphylococcus pseudintermedius* com 16,42%. Em 10,45% dos casos não foi possível a identificação por se tratar de amostras com flora bacteriana mista (tabela 3).

Tabela 2-Microrganismos presentes nas culturas dos canídeos

Microrganismos	nº de isolados	%
<i>Escherichia coli</i>	30	44,78
<i>Proteus mirabilis</i>	15	22,39
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	11	16,42
<i>Flora bacteriana mista</i>	7	10,45
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	1	1,49
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1,49
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1,49
<i>Streptococcus thoraltensis</i>	1	1,49
Total	67	100,00

Na Figura 10 encontram-se os resultados de TSA obtidos para as *E. coli* isoladas dos canídeos. Podemos observar que mais de 90% dos isolados de *E.coli* apresentaram resistência a Cefalexina (1ª geração) e mais de 50% à Cefalotina (1ª geração). Estes isolados foram todos eles sensíveis para amicacina, imipenemo, neomicina e nitrofurantoina.

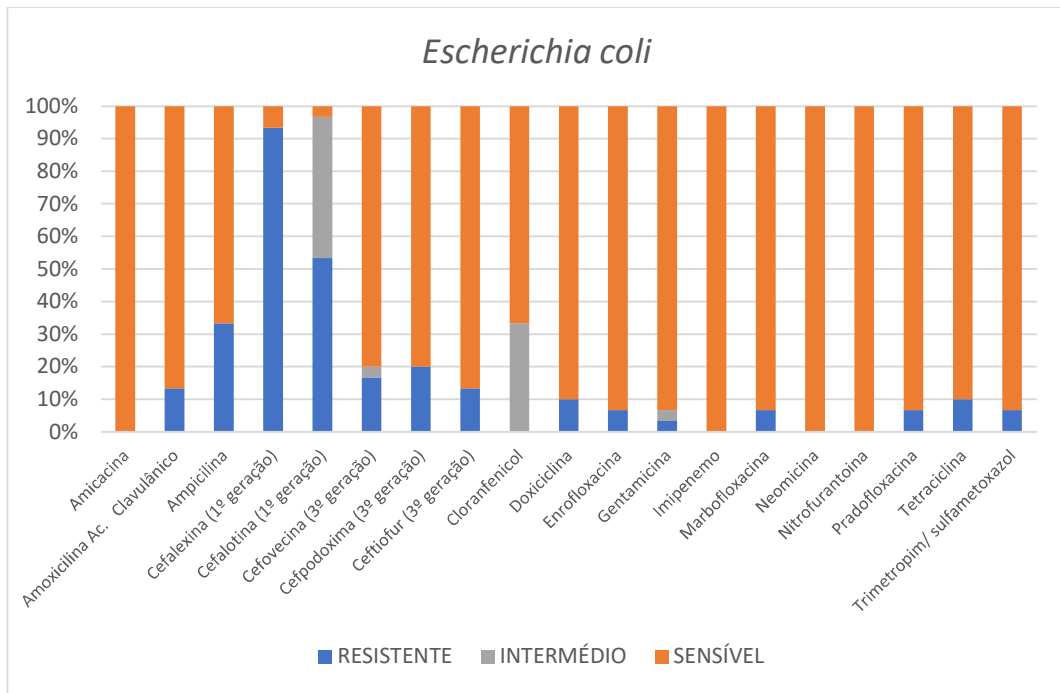


Figura 10-TSA da *Escherichia coli*

Na Figura 11 pode ser observado que dos 15 isolados de *Proteus mirabilis*, todos foram resistentes à doxiciclina, nitrofurantoina e tetraciclina, sendo todos sensíveis a amicacina.

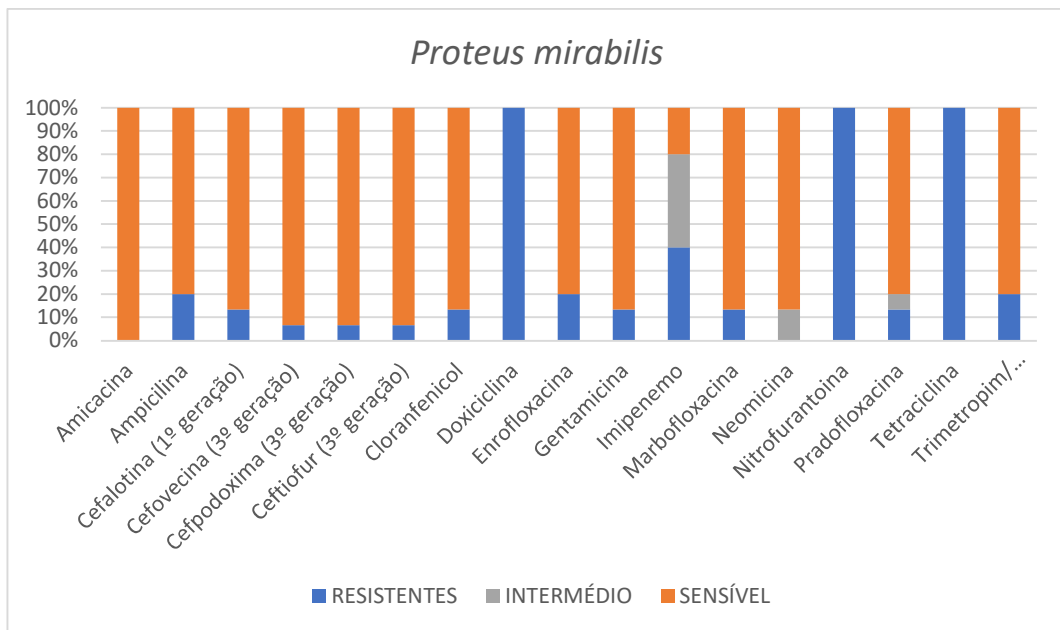


Figura 11-TSA de *Proteus Mirabilis*

Quanto aos 11 isolados de *Staphylococcus pseudintermedius* (Fig. 12) mais de metade destes isolados apresentaram resistências a benzilpenicilina (>70%), doxiciclina (>50%) e tetraciclina (>60%). Foram todos sensíveis a amoxicilina ácido Clavulânico, cefalotina (1ª geração), cefovecina (3ª geração), gentamicina, nitrofurantoina, oxacilina e a trimetropim/sulfametoxazol.

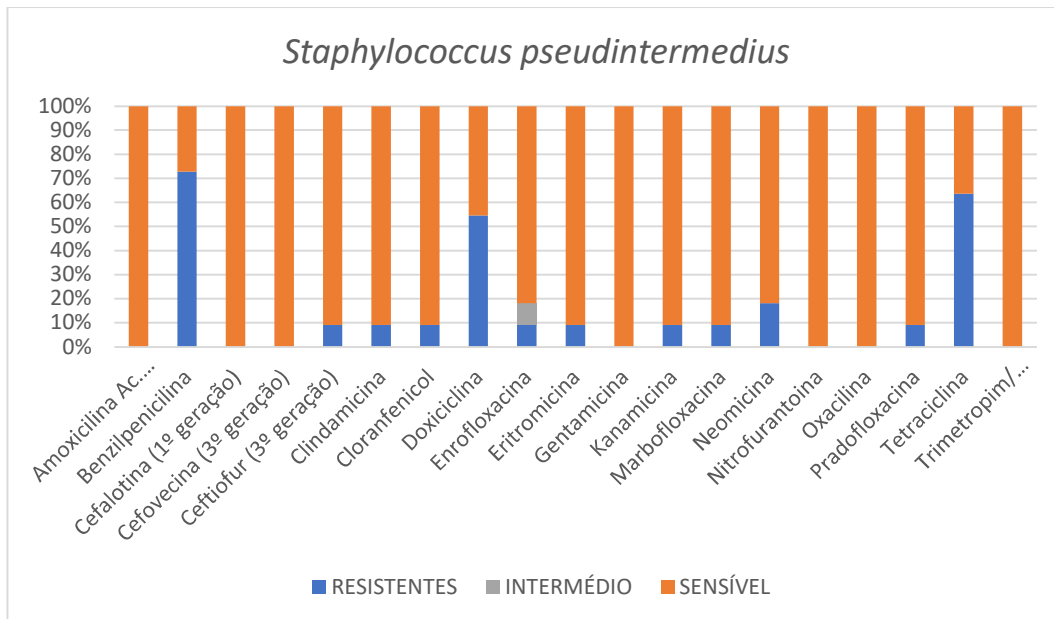


Figura 12-TSA de *Staphylococcus pseudintermedius*

A Figura 13 apresenta o resultado do TSA do isolado de *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria foi isolada em apenas 1 cultura e apresentou resistência a benzilpenicilina, clindamicina, cloranfenicol, kanamicina, marbofloxacina e neomicina, apresentou o nível intermedio para a enrofloxacina, e apresentou sensibilidade para os restantes.

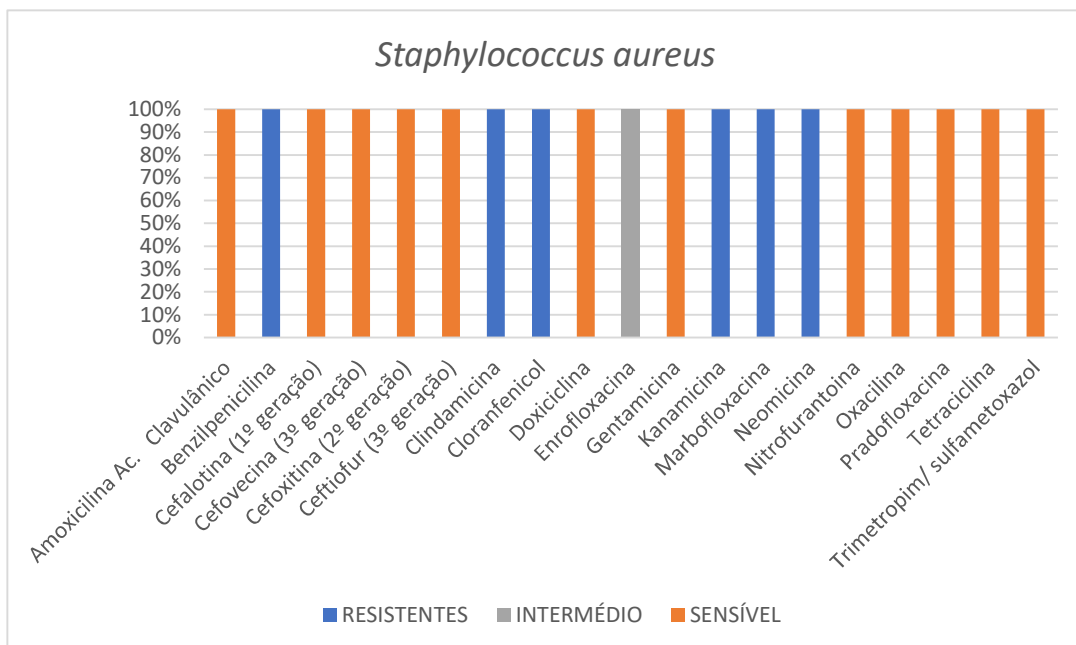


Figura 13-TSA *Staphylococcus aureus*

Nas Figuras 14, 15 e 16 estão representados os perfis de suscetibilidade para as restantes bactérias com apenas um isolado cada. Nestes 3 isolados observou-se apenas resistências no caso do isolado de

Enterobacter cloacae complex para a amoxicilina e ácido clavulânico, Cefalotina (1ª geração) e Cefovecina(1ª geração).

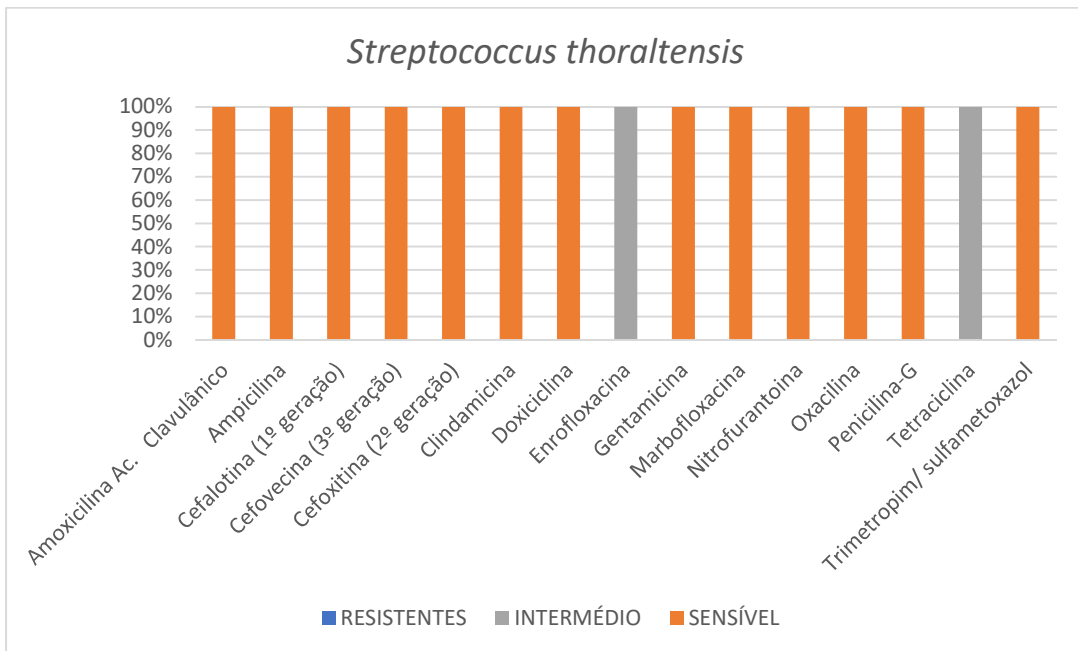


Figura 14-TSA *Streptococcus thoraltensis*

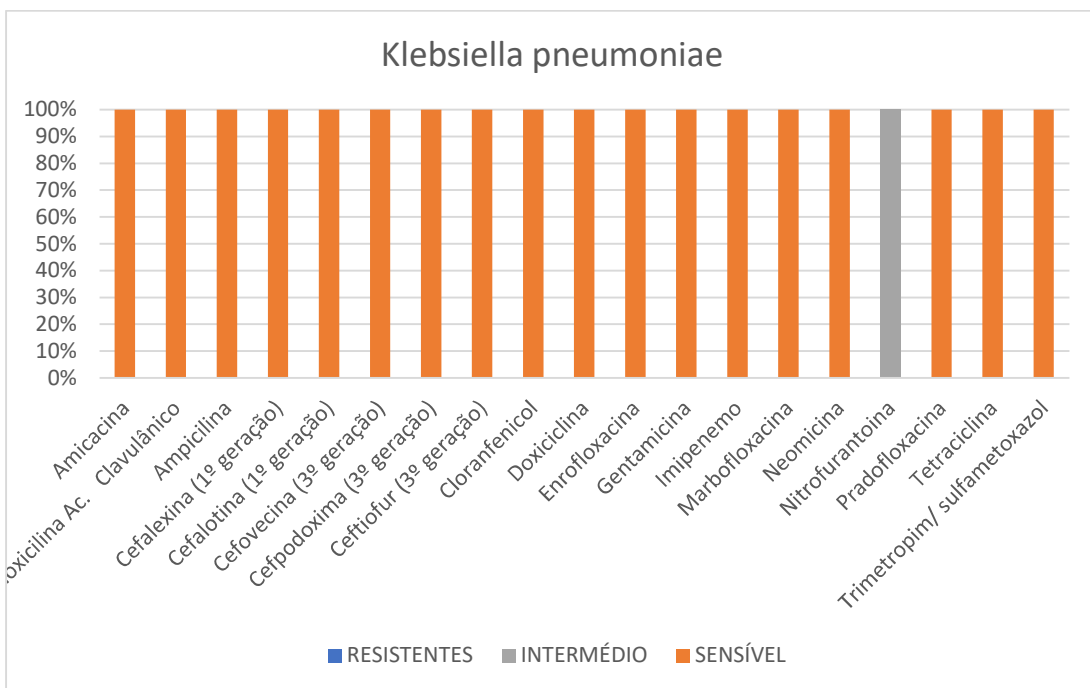


Figura 15-TSA *Klebsiella pneumoniae*

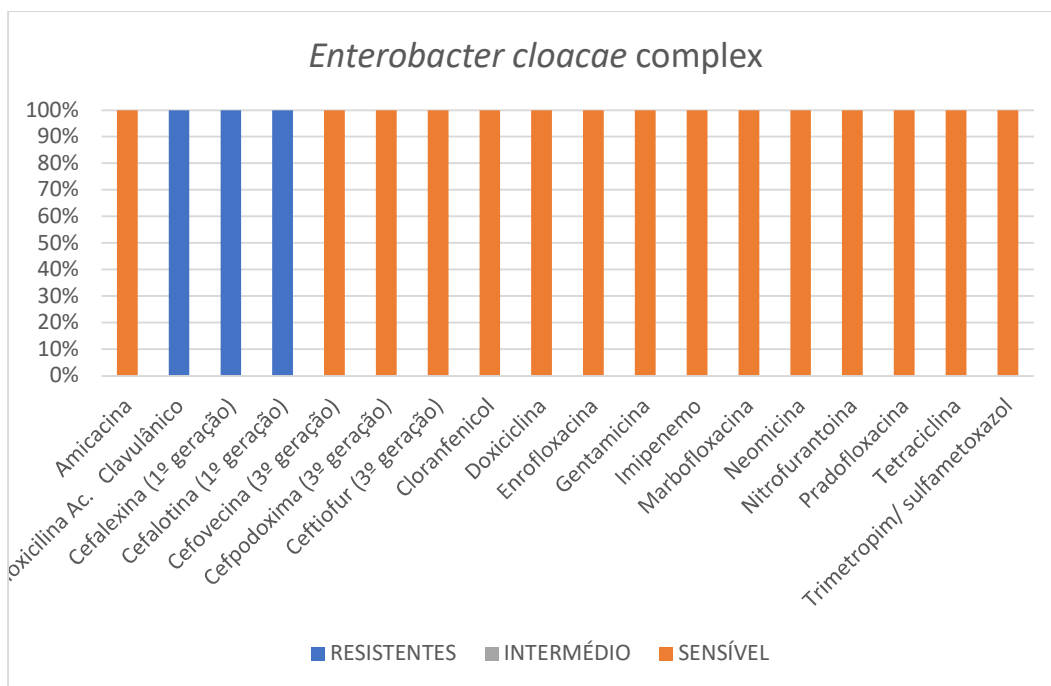


Figura 16-TSA Enterobacter cloacae complex

Em relação aos microrganismos presentes nas culturas dos felídeos podemos determinar que o microrganismo mais isolado foi a *Escherichia coli* com uma frequência de 55,77%, seguida de *Enterococcus faecalis*, com 11,54%, *Staphylococcus coagulase negativa*, *Staphylococcus chromogenes*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae complex*, *Escherichia coli/Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus simulans*, todos com frequências relativas inferiores a 10%(Tabela 3). Destaca-se a elevada frequência de positividade devido a flora bacteriana mista, tal como observado nas culturas dos canídeos (13,46%).

Tabela 3-Microrganismos presentes nas culturas dos felídeos

Microrganismos	nº de isolados	%
<i>Escherichia coli</i>	29	55,77
<i>Flora bacteriana mista</i>	7	13,46
<i>Enterococcus faecalis</i>	6	11,54
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	3	5,77
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	2	3,85
<i>Burkholderia cepacia</i>	1	1,92
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	1	1,92
<i>Escherichia coli/Enterococcus faecalis</i>	1	1,92
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1,92
<i>Staphylococcus simulans</i>	1	1,92
Total	52	100,00

As figuras seguintes representam os resultados obtidos dos testes de suscetibilidade dos microrganismos presentes nas culturas dos felídeos.

Na Figura 17 estão representados os TSA realizados aos 29 isolados de *E. coli*. Podemos verificar que mais de 90% dos isolados apresentam resistência para a cefalexina (1ª geração). Para a cefalotina (1ª geração) mais de 90% dos isolados apresenta resistência ou um nível intermedio de resistência.

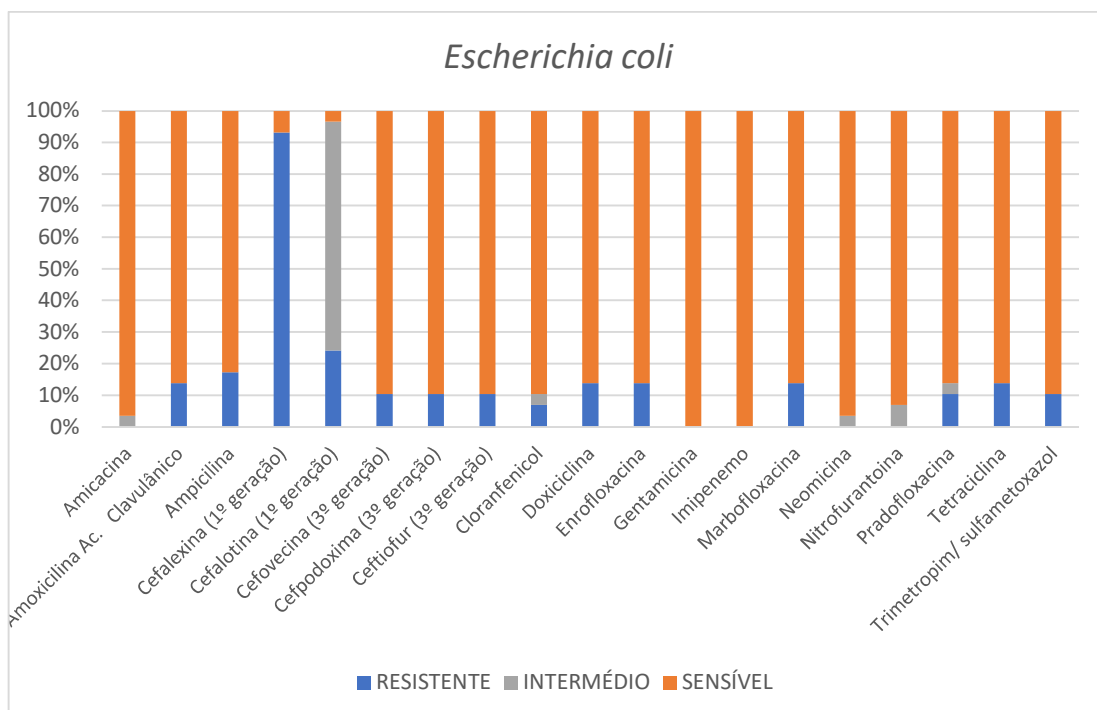


Figura 17-TSA *Escherichia coli*

Relativamente aos 6 isolados de *Enterococcus faecalis* é possível verificar na Figura 18 que todos os isolados apresentam resistência a cefalotina (1ª geração), cefovecina (3ª geração), cefoxitina (2ª geração), clindamicina e para trimetropim/sulfmetoxazol. No caso da tetraciclina e marbofloxacina 50% dos isolados apresentaram resistência.

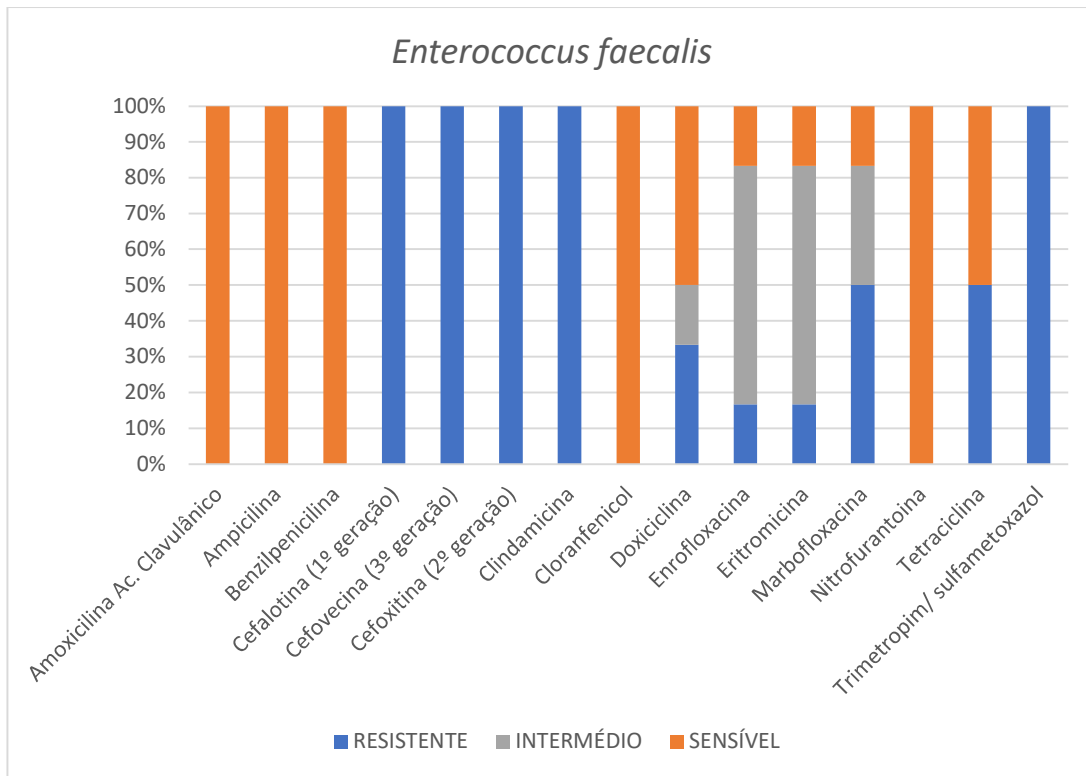


Figura 18-TSA *Enterococcus faecalis*

Na Figura 19 encontram-se representados os resultados aos testes de suscetibilidade realizados aos 3 isolados de *Staphylococcus coagulase* negativa, onde é possível observar a existência de resistências superiores a 50% para clindamicina e para tetraciclina, e sensibilidade igual ou superior 65% para os restantes.

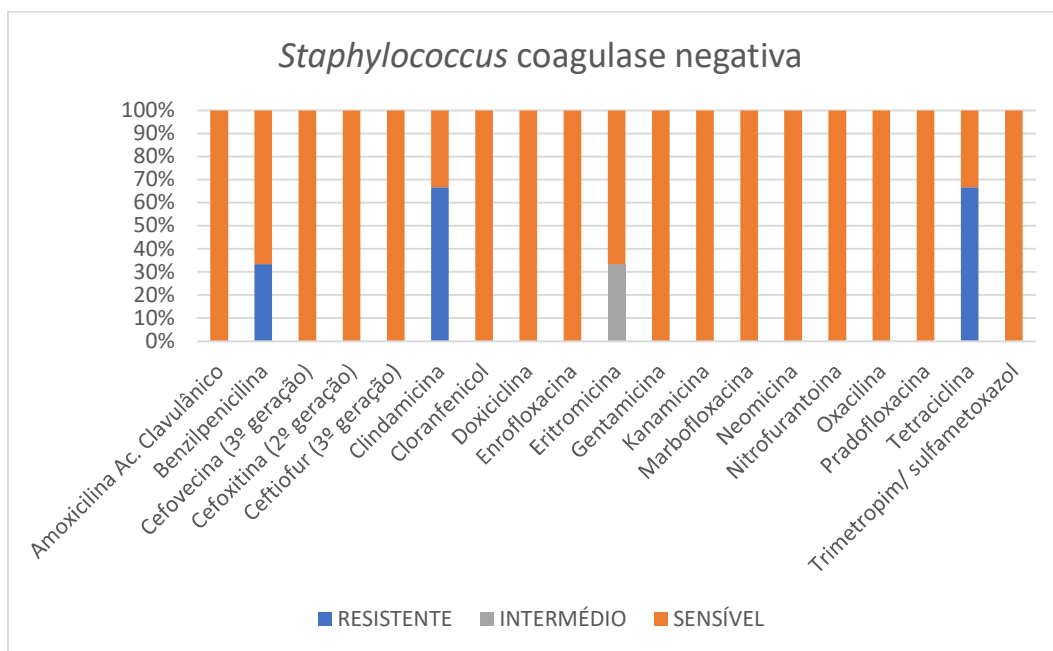


Figura 19-TSA *Staphylococcus coagulase negativa*

Na figura 20 estão expressos os resultados do TSA do isolado de *Enterobacter cloacae* complex, onde pode ser observada resistência para todos os antibióticos testados, à exceção de Cloranfenicol, gentamicina e neomicina, para os quais foi sensível e imipenemo que foi obtida uma suscetibilidade intermédia.

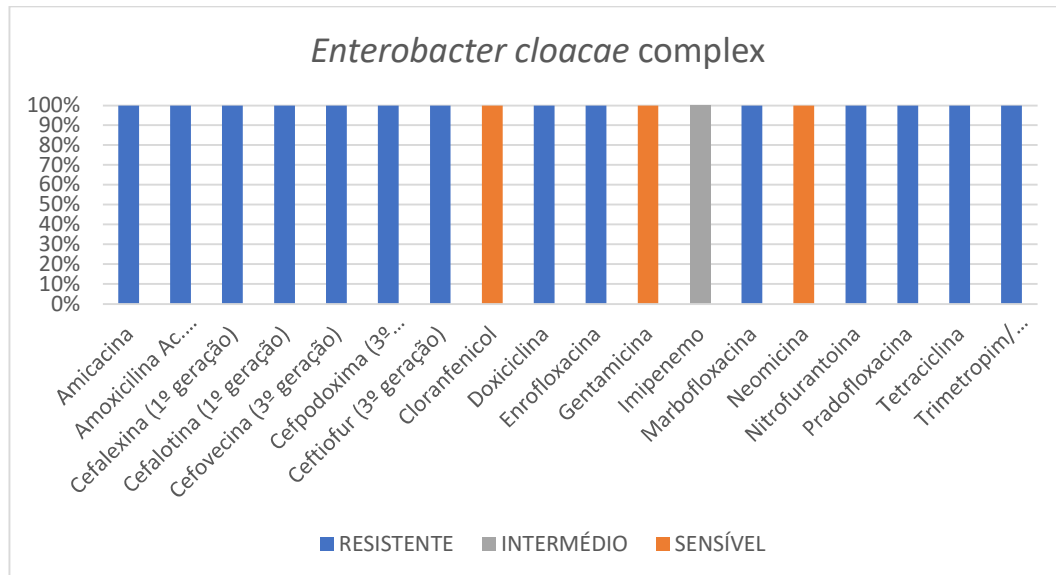


Figura 20-TSA *Enterobacter cloacae* complex

No caso do isolado de *Staphylococcus simulans*, figura 20, é possível observar que este foi sensível para todos os antibióticos testados.

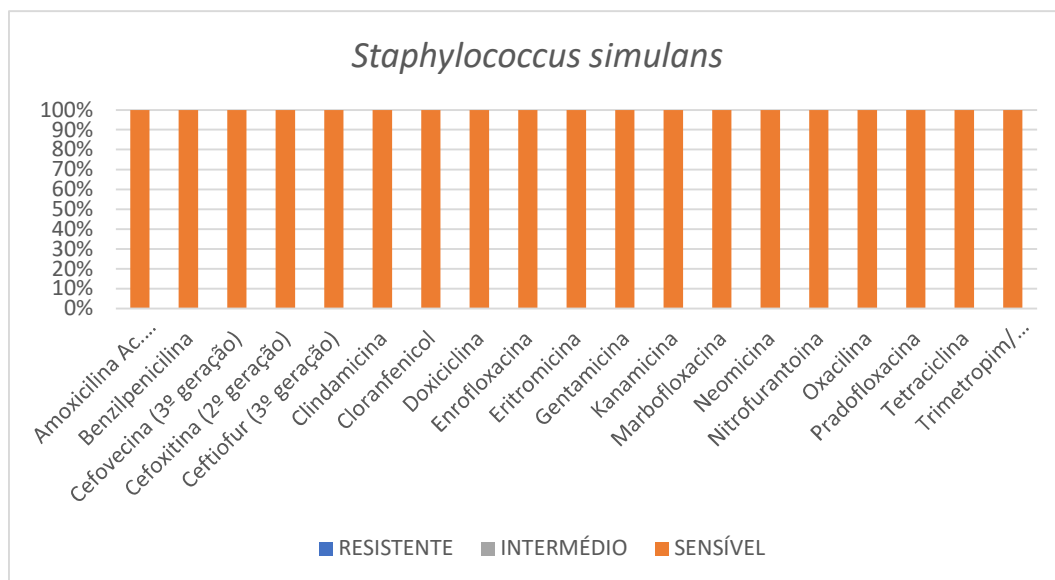


Figura 21-TSA *Staphylococcus simulans*

Na figura 22 estão expressos os resultados do TSA realizado ao isolado de *Pseudomonas aeruginosa*. Este isolado apresentou resistência para todos os antibióticos à exceção dos antibióticos amicacina, ceftazidima(3ª geração) e imipenemo, para os quais foi sensível, e para cloranfenicol e ticarcilina para os quais foi obtido um nível de resistência intermédia.

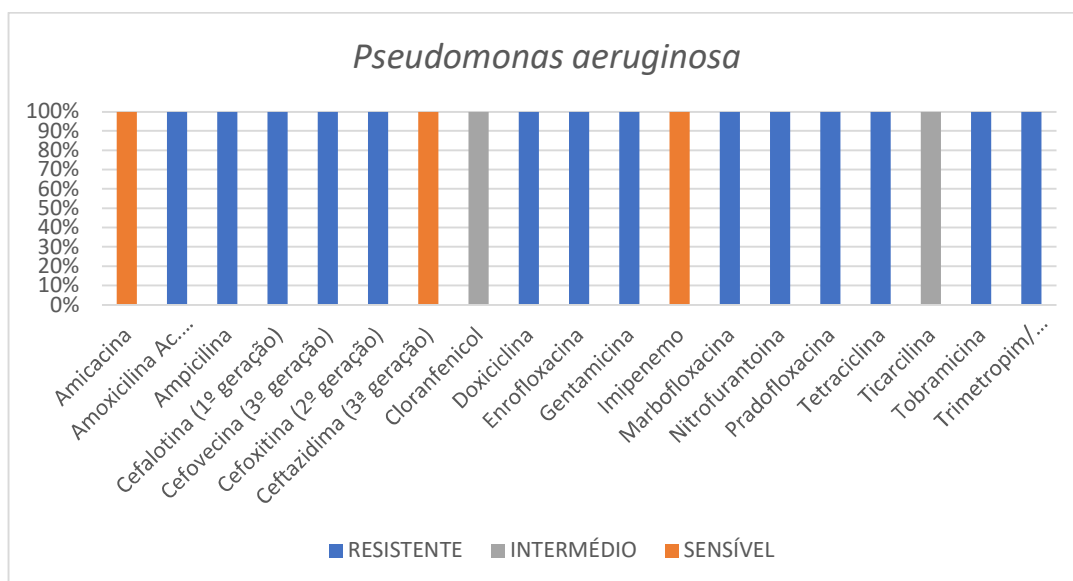


Figura 22- TSA *Pseudomonas aeruginosa*

Na figura 23 estão expressos os resultados do TSA realizado ao isolado de *Staphylococcus chromogenes*. Este isolado não apresentou resistência aos antibióticos testados.

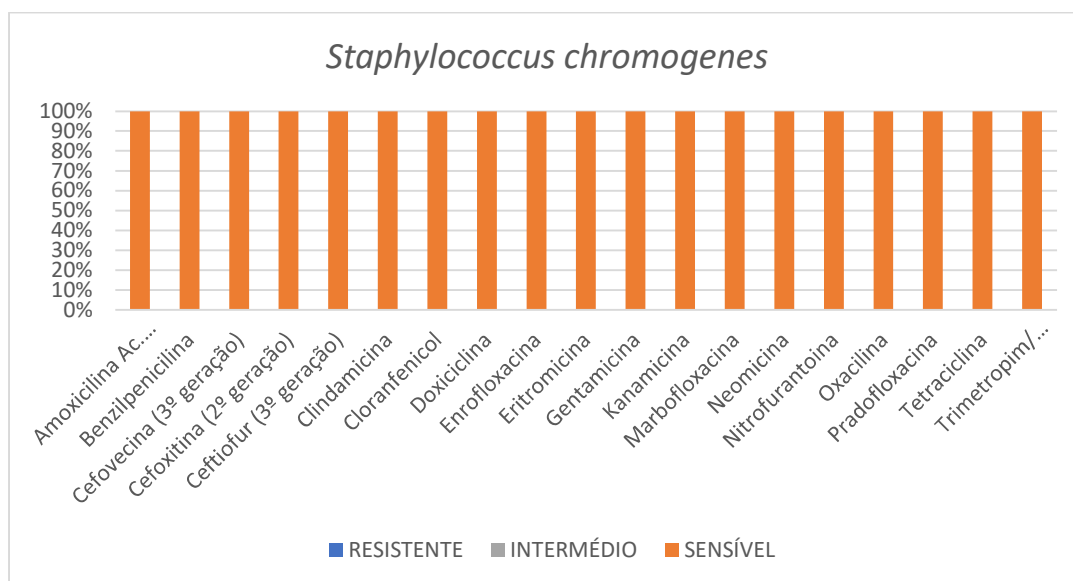


Figura 23- TSA *Staphylococcus chromogenes*

Na figura 24 estão expressos os resultados do TSA realizado ao isolado de *Burkholderia cepacia*. Este isolado apresentou resistência aos antibióticos Amicacina, Cloranfenicol, Gentamicina, Imipenemo e Tetraciclina

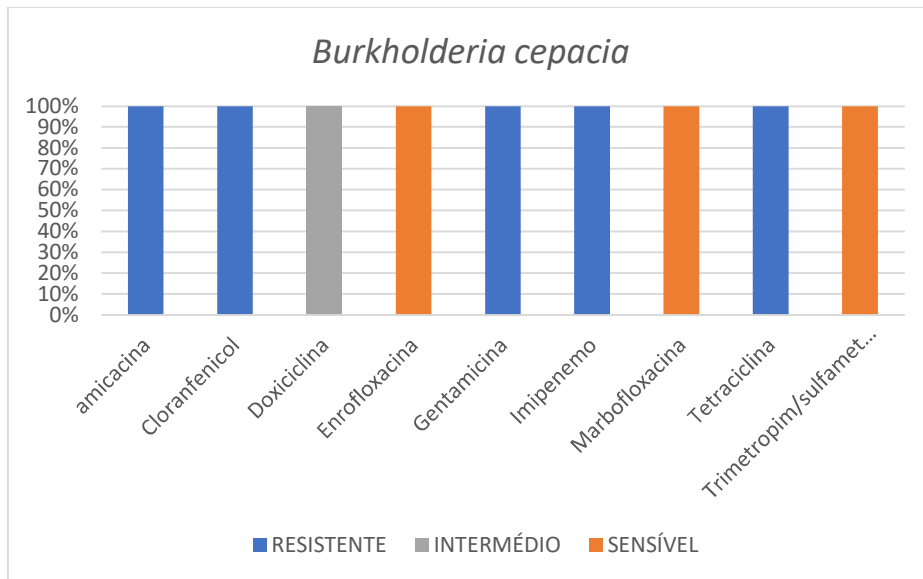


Figura 24-TSA *Burkholderia cepacia*

6. Discussão

Este estudo permitiu avaliar quais os principais agentes etiológicos das infecções urinárias em canídeos e felídeos bem como conhecer o perfil de suscetibilidade dos mesmos.

De acordo com este estudo verificou-se um maior número de infecções de trato urinário em canídeos. Estes dados encontram-se de acordo com o que é descrito na literatura em termos de infecções urinárias nestes animais.(20, 24, 27, 49) A elevada osmolaridade na urina, que inibe a multiplicação de bactérias, é apontada como um fator protetor contra estas infecções nos felídeos. Também observamos um maior número de infecções em fêmeas. Este resultado é justificado na literatura pelo facto de as fêmeas apresentarem uma menor extensão da uretra e uma proximidade desta ao ânus, favorecendo assim o desenvolvimento deste tipo de infecções. (24, 27)

No presente estudo, os animais com uroculturas positivas apresentavam uma média de idades a rondar os 8 anos, encontrando-se de acordo com estudos já realizados por Marques *et al.* (2016), Dorsch *et al.* (2015) e Seguin *et al.* (2003).(27, 33, 48) Os animais com idade mais avançada (mais de 8 anos) são mais suscetíveis a infecções. O aumento das infecções urinárias em animais com idades mais avançadas está associado ao défice na imunidade e à possibilidade de existência de patologias que causem uma maior predisposição para infecções.(26, 34)

A urianálise é um exame de rastreio seguro que pode revelar informações importantes sobre a saúde dos animais, várias condições clínicas podem ser diagnosticadas precocemente, através da realização correta do exame.(50)

Para a realização do sedimento urinário é recomendado a utilização de 5 a 10 mL de urina para uma avaliação, mais representativa dos componentes presente nas urinas. Devido à população em estudo estes parâmetros nem sempre conseguem ser cumpridos devido à dificuldade de colheita das amostras nos animais.(10)

Através do exame do sedimento urinário é possível observar a presença de várias células e cristais. Conforme descrito nos resultados as células epiteliais escamosas e células epiteliais de transição, foram visualizadas em todos os sedimentos. Estas são células do epitélio da uretra e bexiga sendo por isso comuns da urina.(51)

A presença de elevadas quantidades eritrócitos nos sedimentos urinários pode significar que existe uma hemorragia no sistema urogenital. No entanto, o método de colheita como a cistocentese ou algaliação podem induzir hemorragias nos animais(51), o que pode explicar o facto se ter observado maior frequência de eritrócitos nas amostras obtidas por cistocentese.

A presença dos leucócitos pode ser um indicador de inflamação, infecção ou trauma no trato urinário. Tal como referido para os eritrócitos, os métodos de colheita podem também influenciar os resultados, neste caso a algaliação e a micção espontânea podem induzir a presença de leucócitos na urina.(51)

No estudo realizado por Seguin *et al.* (2003), no qual foram analisadas 292 amostras de sedimentos urinários de canídeos com ITUs, observaram eritrócitos em 47% das amostras e leucócitos em 72% das amostras.(27) No estudo realizado por Dorsch *et al.* (2019), que analisou a urina de felídeos, as percentagem obtidas foram superiores, 77% das amostras com presença de eritrócitos e 100% com presença de leucócitos em animais com bacteriúria ou com ITUs. (52) Os resultados obtidos no nosso estudo para a presença de eritrócitos encontram-se de acordo com os do estudo de Dorsch *et al.* (2019). No caso dos leucócitos o nosso estudo apresentou resultados inferiores. Contudo, é de salientar que nos resultados de urocultura obteve-se uma percentagem considerável de culturas com flora bacteriana mista, ou seja, não valorizável clinicamente (10,45% nos canídeos e 13,46% nos felídeos, o que pode justificar esta diferença. Algumas das nossas amostras apresentaram cristais na análise do sedimento urinário, especialmente cristais de estruvite (20,2%). A presença de cristais nas urinas é muito frequente, mas nem sempre a sua presença é indicadora de patologia. No entanto, os cristais de estruvite nos cães são sinal de patologia quando está associado a infeções bacterianas ou quando a quantidade é significativa, mas nos felídeos a sua presença pode ser considerada patológica sem estar associada a infeções.(51) Por sua vez a presença de cristais de oxalato de cálcio pode estar associada a toxicidade por etilenoglicol, os cristais de urato de amónia são sugestivos de doenças hepáticas e os cristais de bilirrubina em grandes quantidades em canídeos e felídeos podem estar associados a obstruções biliar extra-hepáticas ou intra-hepáticas.(51) Os cristais amorfos são encontrados com frequência nos sedimentos, estes são aglomerados de cristais sem características definidas. A presença de gotículas de gordura, espermatozoides e detritos não são consideradas patológicas. (51)

Os métodos de colheita podem influenciar os resultados obtidos nos sedimentos urinários devido aos possíveis traumas, que derivam das colheitas, assim como contaminações nos processos de extração ou de colheita de urina. Os métodos mais adequados para a realização dos sedimentos urinários são a cistocentese, algaliação e compressão manual. A cistocentese e algaliação diminuirão a probabilidade de contaminações, e a compressão manual, aumenta a possibilidade da presença de cristais urinários, permitindo um o diagnostico mais correto.

As bactérias mais frequentemente isoladas nas amostras de urina nos canídeos foram por ordem decrescente *E. coli*, *P. mirabilis*, *S. pseudintermedius*. Estes resultados são semelhantes aos encontrados no estudo realizado por Marques *et al.* (2016), no qual observaram uma maior prevalência da *E. coli* seguida por *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Enterococcus spp.*, noutros estudos realizados as prevalências de *Proteus spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Enterococcus spp.* diferem com os obtidos neste estudo colocando

o *Staphylococcus* spp. e *Enterococcus* spp. com prevalências superior às do *Proteus* spp (37, 48, 53) Nesta amostra de canídeos obteve-se, em 10,45% dos casos, culturas com flora bacteriana mista. Nestas situações não foi possível isolar apenas um microrganismo na cultura, sendo um conjunto de microrganismos consistente com os da flora comensal, não apresentando significado clínico, pois não é possível isolar os microrganismos.

No caso dos felídeos, a *E. coli* foi também a espécie mais frequentemente encontrada seguindo-se *E. faecalis*, *Staphylococcus coagulase negativa*, *S. chromogenes*. A maior frequência da *E.coli*, seguido de *Enterococcus* spp. encontra-se de acordo com os estudos de Litster *et al.* (2007), Bailiff *et al.* (2008) e Martines-Ruzafa *et al.* (2012). (26, 28, 54) Contudo, noutros estudos surge em segunda posição *Staphylococcus* spp. e só depois o *Enterococcus* spp. (48, 55) Tal como descrito para os canídeos também nos felídeos se observou, em 13,46% das amostras, flora bacteriana mista. Conforme referido anteriormente, os métodos de colheita podem aumentar a possibilidade de contaminações, nomeadamente a colheita por micção espontânea, na qual é utilizado o primeiro jato urinário. {Rizzi, 2017 #103} Podemos constatar que 30% das amostras foram colhidas por este método podendo assim justificar os valores de amostras com flora bacteriana mista para estes animais.

Neste trabalho foi possível determinar que nos TSA as bactérias isoladas apresentam maior resistência à cefalotina (1ª geração), com cinco espécies capazes de resistir, e a Doxiciclina, Tetraciclina Marbofloxacina e Trimetropim/sulfmetoxazol com quatro espécies capazes de resistir.

Pode ser observado neste estudo que a *E.coli*, agente etiológico mais frequente, apresenta resistência a cefalexina (1ª geração) superior a 90% quer nos canídeos quer nos felídeos.

Nos canídeos, pode ser ainda observado uma elevada resistência aos antibióticos por parte dos *Staphylococcus aureus* isolados. Estes isolados apresentaram resistência a 6 dos 19 antibióticos testados. Num estudo realizado por Yudhanto *et al.* (2022), as bactérias que apresentaram maior prevalência de resistência foram as da espécie *Staphylococcus*, corroborando os resultados obtidos neste estudo. (56)

Nos felídeos foi observada uma elevada resistência dos isolados de *Enterococcus faecalis* que apresentaram resistência a 5 dos 15 antibióticos testados. No caso das espécies com apenas um isolado cada obtiveram-se perfis de resistência aos antibióticos muito resistentes. No caso do isolado da *Enterobacter cloacae complex* observou-se resistência a 14 dos 18 antibióticos testados e no caso da *Pseudomonas aeruginosa* resistência a 14 dos 19 antibióticos testados. Estes resultados, embora com um n de apenas um, encontram-se de acordo com os resultados apresentados no estudo realizado por Lung *et al.* (2015), que apresentam as bactérias do géneros *Enterobacter* e *Pseudomonas* como bactérias multirresistentes. (38)

A escolha dos antibióticos para o tratamento de uma infecção urinária nestes animais recai sobre os médicos veterinários responsáveis pelos mesmos, utilizando os resultados dos TSA, para auxiliar a sua escolha.(57)

Um estudo realizado por Pokharel et al.(2020), expõe a ligação entre a saúde animal e a saúde humana. No estudo é manifestada a preocupação com a administração de antimicrobianos para crescimento de animais para consumo humano e prevenção de infecções nos animais, podendo levar ao desenvolvimento de resistências antimicrobianas. São apresentadas percentagens de 70%, para a presença de antibióticos de uso humano na composição das comidas para os animais. As resistências antimicrobianas presentes nos animais podem ser transmitidas para os humanos através do ambiente, produtos alimentares ou por contato direto.(58)

7. Conclusão

Este estágio foi extremamente enriquecedor tanto a nível profissional, mas também pessoal.

Através da realização do estágio foi possível adquirir capacidades profissionais de organização, responsabilidade, tendo aplicado técnicas laboratoriais anteriormente desenvolvidas assim como a aquisição de novas competências técnicas. A nível pessoal experienciei a realidade do mundo do trabalho, aperfeiçoei as minhas relações interpessoais e o espírito de trabalho de equipa.

Relativamente ao estudo desenvolvido em contexto de estágio foi possível determinar que as infecções urinárias são mais predominantes nos canídeos, do que nos felídeos, assim como nas fêmeas e que animais com idades avançadas são mais suscetíveis a desenvolver infecções.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram que, à semelhança de outros estudos o agente etiológico mais frequente foi a *Escherichia coli*.

Em relação ao tratamento das infecções é necessário ter atenção aos resultados dos testes de sensibilidade aos antimicrobianos, de forma a que apenas sejam administrados antibióticos para os quais a bactéria seja sensível.

É importante que a administração dos antibióticos seja realizada de forma correta para evitar o aumento das resistências bacterianas, que tem vindo a aumentar devido a utilização descontrolada de antibióticos. Este aumento de resistências é causa de preocupação mundial a nível de saúde pública uma vez que leva a uma diminuição das opções de terapêuticas disponíveis no tratamento de infecções.

8. Referências Bibliográfica

1. Sakamoto S, Putalun W, Vimolmangkang S, Phoolcharoen W, Shoyama Y, Tanaka H, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *J Nat Med.* 2018;72(1):32-42.
2. Multiskan FC Microplate Photometer [Available from: <https://www.thermofisher.com/pt/en/home/life-science/lab-equipment/microplate-instruments/plate-readers/models/multiskan-fc.html>].
3. Odell ID, Cook D. Immunofluorescence techniques. *J Invest Dermatol.* 2013;133(1):e4.
4. Sysmex® XN-10000V [Available from: <https://www.sysmex-europe.com/products/products-detail/xn-1000v.html>].
5. Minicap Sebia [Available from: <https://www.medicalexpo.com/pt/prod/sebia/product-69959-721592.html>].
6. RAL® STAINER [Available from: <https://www.biomerieux.pt/produto/ral-stainer>].
7. Ligozzi M, Bernini C, Bonora MG, De Fatima M, Zuliani J, Fontana R. Evaluation of the VITEK 2 system for identification and antimicrobial susceptibility testing of medically relevant gram-positive cocci. *J Clin Microbiol.* 2002;40(5):1681-6.
8. Garcia-Garrote F, Cercenado E, Bouza E. Evaluation of a new system, VITEK 2, for identification and antimicrobial susceptibility testing of enterococci. *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2108-11.
9. Spanu T, Sanguinetti M, Ciccaglione D, D'Inzeo T, Romano L, Leone F, et al. Use of the VITEK 2 system for rapid identification of clinical isolates of Staphylococci from bloodstream infections. *J Clin Microbiol.* 2003;41(9):4259-63.
10. Rizzi TE, Valenciano AC, Bowles M, Cowell RL, Tyler R, DeNicola DB. *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*: Wiley; 2017.
11. iChem® VELOCITY Urine Chemistry System [Available from: <https://www.beckmancoulter.com/products/urinalysis/ichemvelocity>].
12. ParasiTrap® System [Available from: <https://biosepar.de/en/parasitrap-2/>].
13. Charles M. Hendrix ER. *Diagnostic Parasitology for Veterinary Technicians*. 4 ed. Merchant T, editor. Elsevier: Penny Rudolph; 2012. 392 p.
14. Beckman Coulter AU480 [Available from: <https://www.beckmancoulter.com/en/products/chemistry/au480#/specifications>].
15. Immulite® 2000 XPI [Available from: <https://www.siemens-healthineers.com/pt/immunoassay/systems/immulite-2000-xpi-immunoassay-system>].
16. Sysmex® CA-600 [Available from: <https://www.sysmex-ap.com/product/ca-600/>].

17. Smee N, Loyd K, Grauer GF. UTIs in small animal patients: part 2: diagnosis, treatment, and complications. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2013;49(2):83-94.
18. Weese JS, Blondeau J, Boothe D, Guardabassi LG, Gumley N, Papich M, et al. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *The Veterinary Journal.* 2019;247:8-25.
19. Bartges JW. Diagnosis of urinary tract infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34(4):923-33, vi.
20. Hernando E, Vila A, D'Ippolito P, Rico AJ, Rodon J, Roura X. Prevalence and Characterization of Urinary Tract Infection in Owned Dogs and Cats From Spain. *Top Companion Anim Med.* 2021;43:100512.
21. M.Bassert TCJ. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians.* Third ed. St.Louis, Missouri : Elsevier/Mosby, [2016]2016 March 10, 2015. 656 p.
22. Barsanti JA, Finco DR. Laboratory findings in urinary tract infections. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1980;9(4):729-48.
23. Litster A, Thompson M, Moss S, Trott D. Feline bacterial urinary tract infections: An update on an evolving clinical problem. *Vet J.* 2011;187(1):18-22.
24. Dennis Chew SD, Patricia Schenck. *Canine and Feline Nephrology and Urology.* 2 ed: Elsevier Saunders; 2011. 528 p.
25. Sirois M. *Laboratory Procedures for Veterinary Technicians.* 6 ed: Elsevier; 2015. 441 p.
26. Bailiff NL, Westropp JL, Nelson RW, Sykes JE, Owens SD, Kass PH. Evaluation of urine specific gravity and urine sediment as risk factors for urinary tract infections in cats. *Vet Clin Pathol.* 2008;37(3):317-22.
27. Seguin MA, Vaden SL, Altier C, Stone E, Levine JF. Persistent urinary tract infections and reinfections in 100 dogs (1989-1999). *J Vet Intern Med.* 2003;17(5):622-31.
28. Martinez-Ruzafa I, Kruger JM, Miller R, Swenson CL, Bolin CA, Kaneene JB. Clinical features and risk factors for development of urinary tract infections in cats. *J Feline Med Surg.* 2012;14(10):729-40.
29. Olin SJ, Bartges JW. Urinary tract infections: treatment/comparative therapeutics. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2015;45(4):721-46.
30. Wynn SG, Witzel AL, Bartges JW, Moyers TS, Kirk CA. Prevalence of asymptomatic urinary tract infections in morbidly obese dogs. *PeerJ.* 2016;4:e1711.
31. Bubenik L, Hosgood G. Urinary tract infection in dogs with thoracolumbar intervertebral disc herniation and urinary bladder dysfunction managed by manual expression, indwelling catheterization or intermittent catheterization. *Vet Surg.* 2008;37(8):791-800.
32. Budreckis DM, Byrne BA, Pollard RE, Rebhun RB, Rodriguez CO, Jr., Skorupski KA. Bacterial urinary tract infections associated with transitional cell carcinoma in dogs. *J Vet Intern Med.* 2015;29(3):828-33.

33. Dorsch R, von Vopelius-Feldt C, Wolf G, Straubinger RK, Hartmann K. Feline urinary tract pathogens: prevalence of bacterial species and antimicrobial resistance over a 10-year period. *Vet Rec.* 2015;176(8):201.
34. Ling GV, Norris CR, Franti CE, Eisele PH, Johnson DL, Ruby AL, et al. Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex, and breed among 8,354 canine urinary tract infections (1969-1995). *J Vet Intern Med.* 2001;15(4):341-7.
35. Ball KR, Rubin JE, Chirino-Trejo M, Dowling PM. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002-2007. *Can Vet J.* 2008;49(10):985-90.
36. Féria CP, Correia JD, Machado J, Vidal R, Gonçalves J. Urinary tract infection in dogs. Analysis of 419 urocultures carried out in Portugal. *Adv Exp Med Biol.* 2000;485:301-4.
37. Hall JL, Holmes MA, Baines SJ. Prevalence and antimicrobial resistance of canine urinary tract pathogens. *Vet Rec.* 2013;173(22):549.
38. Lund HS, Skogtun G, Sørnum H, Eggertsdóttir AV. Antimicrobial susceptibility in bacterial isolates from Norwegian cats with lower urinary tract disease. *J Feline Med Surg.* 2015;17(6):507-15.
39. Piech TL, Wycislo KL. Importance of Urinalysis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2019;49(2):233-45.
40. Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, Breitschwerdt EB, Guardabassi L, Hillier A, et al. Antimicrobial use guidelines for treatment of urinary tract disease in dogs and cats: antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases. *Vet Med Int.* 2011;2011:263768.
41. Kallstrom G. Are quantitative bacterial wound cultures useful? *J Clin Microbiol.* 2014;52(8):2753-6.
42. Sørensen TM, Jensen AB, Damborg P, Bjørnvad CR, Guardabassi L, Jessen LR. Evaluation of different sampling methods and criteria for diagnosing canine urinary tract infection by quantitative bacterial culture. *The Veterinary Journal.* 2016;216:168-73.
43. Morley PS, Apley MD, Besser TE, Burney DP, Fedorka-Cray PJ, Papich MG, et al. Antimicrobial drug use in veterinary medicine. *J Vet Intern Med.* 2005;19(4):617-29.
44. Steeve Giguère JFP, Patricia M. Dowling. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine.* 5 ed: Wiley-Blackwell; 2013. 701 p.
45. Schwarz S, Loeffler A, Kadlec K. Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Vet Dermatol.* 2017;28(1):82-e19.
46. van Duijkeren E, Schink AK, Roberts MC, Wang Y, Schwarz S. Mechanisms of Bacterial Resistance to Antimicrobial Agents. *Microbiol Spectr.* 2018;6(1).

47. Buckland EL, O'Neill D, Summers J, Mateus A, Church D, Redmond L, et al. Characterisation of antimicrobial usage in cats and dogs attending UK primary care companion animal veterinary practices. *Vet Rec.* 2016;179(19):489.
48. Marques C, Gama LT, Belas A, Bergström K, Beurlet S, Briend-Marchal A, et al. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Veterinary Research.* 2016;12(1):213.
49. Fonseca JD, Mavrides DE, Graham PA, McHugh TD. Results of urinary bacterial cultures and antibiotic susceptibility testing of dogs and cats in the UK. *J Small Anim Pract.* 2021;62(12):1085-91.
50. Yadav SN, Ahmed N, Nath AJ, Mahanta D, Kalita MK. Urinalysis in dog and cat: A review. *Vet World.* 2020;13(10):2133-41.
51. Callens AJ, Bartges JW. Urinalysis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2015;45(4):621-37.
52. Dorsch R, Teichmann-Knorrn S, Sjetne Lund H. Urinary tract infection and subclinical bacteriuria in cats: A clinical update. *J Feline Med Surg.* 2019;21(11):1023-38.
53. Wong C, Epstein SE, Westropp JL. Antimicrobial Susceptibility Patterns in Urinary Tract Infections in Dogs (2010-2013). *J Vet Intern Med.* 2015;29(4):1045-52.
54. Litster A, Moss SM, Honnery M, Rees B, Trott DJ. Prevalence of bacterial species in cats with clinical signs of lower urinary tract disease: recognition of *Staphylococcus felis* as a possible feline urinary tract pathogen. *Veterinary microbiology.* 2007;121(1-2):182-8.
55. Teichmann-Knorrn S, Reese S, Wolf G, Hartmann K, Dorsch R. Prevalence of feline urinary tract pathogens and antimicrobial resistance over five years. *Vet Rec.* 2018;183(1):21.
56. Yudhanto S, Hung CC, Maddox CW, Varga C. Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated From Canine Urine Samples Submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory, Illinois, United States. *Front Vet Sci.* 2022;9:867784.
57. Carvalho VM, Spinola T, Tavorali F, Irino K, Oliveira RM, Ramos MCC. Infecções do trato urinário (ITU) de cães e gatos: etiologia e resistência aos antimicrobianos. *Pesquisa Veterinária Brasileira.* 2014;34(1):62-70.
58. Pokharel S, Shrestha P, Adhikari B. Antimicrobial use in food animals and human health: time to implement 'One Health' approach. *Antimicrobial Resistance & Infection Control.* 2020;9(1):181.

9. Anexos

Anexo 1 – Análises para o exterior

Brometo de potássio	Proteinograma urinário
Cálculos Urinários	Rácio Cortisol:Creatinina Urinária
Microalbuminúria	Screening ambiental
Painel alimentar	Screening alimentar
Painel ambiental	

Anexo 2- Análises realizadas na Bioquímica

Ácidos biliares	Frutosamina
Ácido fólico (folato)	GGT (gama-glutamil transferase)
Ácido úrico	GLDH (glutamato desidrogenase)
Albumina	Glucose
ALT/GPT (alanina aminotransferase)	Ionograma
Amilase	LDH (lactato desidrogenase)
Amónia	Lípase
AST/GOT (aspartato aminotransferase)	Magnésio
Bilirrubina total	cPLI (canine pancreatic lipase immunoreactivity)
Bilirrubina directa	fPLI (feline pancreatic lipase immunoreactivity)
Cálcio ionizado	Potássio
Cálcio total	PT (proteínas totais)
CK (creatinina quinase)	Sódio
Cloro	TLI canino (trypsin- like immunoreactivity)
Cobre	TLI feline (trypsin- like immunoreactivity)
Colesterol	Triglicéridos
Creatinina	Troponina 1
FA (fosfatase alcalina)	ureia
FA a 65 ° C	Vitamina B12 (cobalamina)
Ferro	Zinco
Fósforo	Rácio proteína- creatinina urinária