



Aspectos físicos, químicos e microbiológicos de urina de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*

[Physical, chemical and microbiological examination of urine from dogs with natural infection of *Leishmania (Leishmania) chagasi*]

"Artigo Científico / Scientific Article"

NMS Lira^{A(1)}, DS Pimentel^A, RAN Ramos^B, LMD Alexandre^B, MAG Faustino^C,
RM Peixoto^D, RA Mota^C, LC Alves^C

^ADiscente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Av. Manoel de Medeiros, s/n. Dois Irmãos, CEP 52171 900 Recife-Pernambuco-Brasil.

^BDiscente do Curso de Medicina Veterinária / Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

^CProfessor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária/Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

^DDiscente do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, Rodovia BR 407, 12 Lote 543 - Projeto de Irrigação Nilo Coelho - S/N C1 CEP: 56300-000 - Petrolina/PE.

Resumo

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC), também conhecida como Calazar, é causada por *L. chagasi* e os sinais clínicos como doença renal são sugestivos de uma resposta imunomediada. O objetivo desse trabalho foi avaliar os exames físicos, químicos e microbiológicos da urina de cães com infecção natural por *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Amostras de urina foram coletadas por cistocentese de 20 cães, os quais foram sorologicamente positivos para *Leishmania* sp. pelo teste ELISA. Alterações urinárias na coloração da urina foram visibilizadas em 70% das amostras, seguida pela modificação do pH (45%) e presença de proteína e sangue (50%). Os resultados da urocultura revelaram que 35% das amostras foram positivas, com prevalência de *Staphylococcus* spp. (20%), *Shigella sonnei* (15%), *Streptococcus* spp. (5%) e *Providencia stuartii* (5%). Esses achados demonstram que a pesquisa de proteínas e hemácias na urina de caninos com LV, pode ser uma ferramenta importante para avaliar o comprometimento renal, e que em áreas endêmicas para leishmaniose visceral, cães com sinais clínicos de disfunção renal e cistite, devem ser considerados suspeitos para LVC.

Palavras-chave: Urinálise, Calazar canino, Urocultura.

Abstract

Canine visceral leishmaniasis (CVL) as know as Canine Kala-Azar is caused by *Leishmania (Leishmania) chagasi* and the clinical signs such as renal failure are suggestive of an immunomediated response. The aim of this study was to evaluate the physical, chemical and microbiological aspects of urine from dogs with natural infection of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Urine specimens were collected by cystocentesis from 20 dogs, which all of them were serologically positive for *Leishmania* sp by ELISA test. Out of 20 samples, 70% showed different patterns of colors, follow by pH values changes (45%) and protein and blood contents (50%). Microorganisms were isolated in 35% of urine samples, with prevalence of *Staphylococcus* spp. (20%), *Shigella sonnei* (15%), *Streptococcus* spp. (5%) and *Providencia stuartii* (5%). These data showed that the protein and blood contents determination is an important tool to evaluate the renal involvement in CVL. On the other hand dogs with cystitis must be evaluate to CVL.

Key-words: Urinalysis, Canine kala azar, uroculture.

⁽¹⁾ Autora para correspondência (nadjavet@gmail.com).

^(S) Recebido 19/11/2008 e aceito em 17/03/2009.

Introdução

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença imunomediada, causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) chagasi*, parasito intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear (NOLI, 1999).

A evolução da doença é determinada pela competência imunológica do hospedeiro (GOTO e LINDOSO, 2004), a qual pode acarretar uma formação de grande quantidade de imunocomplexos circulantes que irão se depositar em vasos e órgãos, causando vasculites, oftalmopatias e artropatias (SLAPPENDEL, 1988), podendo resultar em complicações sistêmicas, particularmente infecções secundárias, sepse e hipotensão (SLAPPENDEL e FERRER, 1998; COSTA et al., 2003).

O envolvimento renal, intersticial e/ou glomerular é um acometimento bem conhecido das infecções produzidas pela *L. donovani* em animais experimentais (COUNCILMAN, 1998; CARAVACA et al., 1991), assim como na LVC (FERRER, 1999; COSTA et al., 2003; SOARES et al., 2005).

Em função do aumento do número de casos de LVC, e manifestações compatíveis com doença renal, o objetivo desse trabalho foi avaliar os aspectos físico-químicos e microbiológicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Material e Métodos

Foram coletadas amostras de urina de 20 animais sorologicamente positivos para *Leishmania (Leishmania) chagasi*, de ambos os sexos, de raças e idades variadas, provenientes do Município de Tamandaré, Microrregião da Mata Meridional do Estado de Pernambuco.

A urina foi coletada através do método de cistocentese de acordo com a metodologia proposta por Coles (1984), utilizando-se seringa descartáveis de 20 mL (Becton Dickson®) e agulhas descartáveis 40 x 12mm (Becton Dickson®), após o que foi mantida sob refrigeração a temperatura de 4°C

durante o período máximo de quatro horas até o processamento. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) para realização da urinálise. Foram determinadas nas amostras coletadas de urina dos 20 cães sorologicamente reagentes para leishmaniose visceral, a bilirrubina, urobilinogênio, corpos cetônicos, glicose, proteínas totais, nitrito, pH, densidade, hemácias e leucócitos utilizando fitas reagentes (Labtest®) seguindo as instruções do fabricante. Para o exame do sedimento urinário, centrifugou-se 10 mL da urina por cinco minutos a 271g, em seguida, o sobrenadante era desprezado e o sedimento examinado em microscópio óptico. Como referencia foram utilizados os parâmetros de normalidade descritos por Garcia-Navarro (2005).

Para realização da urocultura, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Bacterioses da UFRPE, sendo semeadas em ágar base (Biobrás®) Sangue ovino (5%) desfibrinado e ágar MacConkey (Biobrás®), e mantidos à temperatura de 37°C por 24-48 horas. Após o período de incubação as bactérias isoladas foram submetidas aos métodos clássicos de identificação de acordo com sua morfologia através da coloração de Gram e posterior identificação em microscópio óptico com objetiva de 40x. Em seguida, para identificação das bactérias Gram negativas, estas foram semeadas em caldo ágar Infusão Cérebro Coração (BHI) (Difco®), mantidos à temperatura de 37°C por 24 horas, sendo realizado o teste bioquímico em ágar Tríplice-açúcar-ferro (TSI) (Difco®), ágar Citrato Simmons (MBiolog®), ágar SIM (Eximlab®), Lisina (Inlab®), Vermelho de Metila (VM) (Nuclear®) e Voges Proskauer (VP) (Agel®).

Resultados e Discussão

Os resultados da urinálise e da urocultura nas amostras de urina de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1 - Resultados da urinálise e da urocultura nas amostras de urina de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Animal	Odor	Cor	Bil	Tur	Urob	Cet	Gli	Prot	San	Nit	pH	Dens	Leuc	Cil	Cris	Cultura Bactérias
1	<i>Sui generis</i>	Amar cit	-	+	++	+	-	+++	++	-	5	1.015	-	+	+	<i>Stafilococcus spp.</i> + <i>P. stuartii</i>
2	<i>Sui generis</i>	Amar cast claro	-	-	++	-	-	++	++	-	6	1.015	++	+	+	-
3	<i>Sui generis</i>	Amar citr	-	-	-	-	-	-	-	-	6	1.010	-	-	+	-
4	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	-	++	-	6	1.020	-	+	-	<i>Stafilococcus spp.</i>
5	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	-	-	-	6	1.005	-	-	-	<i>Stafilococcus spp.</i>
6	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	+	-	-	-	++	++	-	5	1.030	-	+	-	-
7	<i>Sui generis</i>	Amar citr	-	+	-	-	-	++	++	-	9	1.000	++	+	+	<i>Streptococcus spp.</i>
8	<i>Sui generis</i>	Amar citr	-	-	-	-	-	-	-	-	6,5	1.005	-	+	-	-
9	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	+	-	-	-	-	5	1.030	-	+	-	-
10	<i>Sui generis</i>	Amar cast claro	++	+	-	-	-	++	++	-	6,5	1.015	-	+	-	-
11	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	++	-	-	-	-	++	-	-	6	1.030	-	+	+	-
12	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1.030	-	-	+	-
13	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1.025	-	-	+	-
14	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	+	-	-	-	-	++	-	5,5	1.030	-	-	+	<i>S. sonnei</i> + <i>Stafilococcus spp.</i>
15	<i>Sui generis</i>	Amar citr	-	-	-	-	-	-	-	-	6,5	1.020	-	-	-	-
16	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	+++	-	-	5	1.030	-	-	+	-
17	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1.030	-	-	+	<i>S. sonnei</i>
18	<i>Sui generis</i>	Amar citr	-	-	-	-	-	++	++	-	5	1.030	-	+	+	-
19	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	-	-	-	-	-	++	-	-	6,5	1.020	-	+	+	<i>S. sonnei</i>
20	<i>Sui generis</i>	Amar âmbar	++	+	-	-	-	+++	++	-	5	1.025	-	+	+	-

*Urob – Urobilinogênio; Bil – Bilirrubina; Tur – Turbidez; Cet – Cetona; Gli – Glicose; Prot – Proteína; San – Sangue; Nit – Nitrito; Dens – Densidade; Leuc – Leucócitos; Cil – Cilindro; Cris – Cristais; Amar citr – Amarelo citrino; Amar cast claro – Amarelo castanho claro; Amar âmbar – Amarelo âmbar.

Na urinálise observou-se que 70% (14/20) das amostras apresentaram alteração na cor, tendendo para o amarelo âmbar. Contudo, o odor *sui generis* predominou em 100% das amostras. Os resultados aqui encontrados foram semelhantes àqueles descritos por Novaes (2005) que observou alterações na cor da urina em 75% dos cães

naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*.

Em relação ao aspecto de turbidez das amostras, 25% (5/20) apresentaram aspecto turvo e 5% (1/20) ligeiramente turvo com secreção branco-leitosa.

A intensidade da cor da urina é diretamente proporcional à concentração de

urocromo, estando relacionada à densidade urinária e a alguns estados patológicos. Por outro lado, a turvação da urina, associada à uma secreção branco-leitosa, pode estar associada à presença cilindros, bactérias, cristais, leucócitos, entre outros (PACHECO, 1998).

Os resultados da avaliação da densidade mostraram uma variação entre 1.000 a 1.030. Apesar desse método não fornecer um valor preciso nem ser sensível às alterações sofridas pela densidade, seu aumento está associado a patologias que provocam uma diminuição da velocidade de filtração glomerular ou incapacidade do rim de reabsorver água, dentre elas, as nefrites agudas e glomerulonefrites. Por outro lado, a diminuição da densidade urinária pode ser decorrente de processos renais crônicos (GARCIA-NAVARRO, 2005).

O envolvimento renal intersticial e/ou glomerular é conhecido como uma seqüela de cães infectados naturalmente por *L. (L.) chagasi* (POLI et al., 1991; NOLI, 1999), sendo atribuído à deposição de imunocomplexos e intenso infiltrado inflamatório plasmocitário (TAFURI et al., 1989; FEITOSA et al., 2000; SOARES et al., 2005), podendo levar o animal à morte (CIARAMELLA et al., 1997; POCAI et al., 1998; FERRER, 1999).

O pH urinário estava ligeiramente ácido em 45% (9/20) das amostras urinárias. De acordo com Meyer et al. (1995) nos carnívoros e onívoros o pH da urina pode variar de ácido a alcalino, dependendo da quantidade de proteína animal oferecida na dieta. O aumento da alcalinidade foi observado em 5% (1/20) das amostras, podendo este ser resultante de distúrbios inflamatórios ou a presença de microorganismos na urina.

A bilirrubinúria e a urobilinogenúria estavam presentes em 15% (3/20) e 10% (2/20) das amostras testadas respectivamente. Essas alterações podem ser indicadores de lesões hepáticas (MEYER et al., 1995), e surgem por ocasião de patologias que alteram a capacidade de excreção da bilirrubina

conjugada pelo fígado (PACHECO, 1998), podendo ser detectada antes que sua concentração sérica tenha aumentado (DIBARTOLA, 1997).

O envolvimento hepático tem sido frequentemente encontrado na literatura em cães acometidos por LVC (CIARAMELLA et al., 1997; CIARAMELLA e CORONA, 2003; ALVES e FAUSTINO, 2005).

A fita indicadora de cetona mostrou traços em 10% (2/20) dos animais, contudo esse resultado pode estar associado ao processo de inanição (GARCIA-NAVARRO, 2005) que alguns animais encontravam-se.

Foram observadas proteína e/ou sangue nas amostras de urina dos animais pela reação positiva na fita reagente do kit labtest em 50% (10/20) dos cães. Enquanto a leucocitúria foi observada em 10% (2/20) das amostras analisadas. Esses achados são descritos frequentemente na urina de pacientes humanos e cães infectados por *Leishmania* sp., decorrente do envolvimento da função renal (NIETO et al., 1992; FEITOSA, 2001; SALGADO-FILHO et al., 2003; NOVAES, 2005).

Segundo Zatteli et al. (2003), a avaliação qualitativa de proteínas urinárias serve como diagnóstico primário em condições de patologias glomerulares.

Cilindrúria foi observada em 60% (12/20) dos animais, particularmente cilindros granulares em 45% (9/20) e 15% (3/20) de cilindro hialino. A cristalúria foi identificada em 90% dos animais estudados, distribuídos em 50% (10/20) cristais de oxalato de cálcio, 20% (4/20) de urato amorfo, 15% (3/20) de fosfato triplo e 5% (1/20) de fosfato amorfo.

Novaes (2005) pesquisando a urina de cães com LVC encontrou resultados similares em relação à cilindrúria. Contudo, Oliveira et al. (1993) relataram a presença de raros cilindros granulares na urina de cães infectados experimentalmente por *L. chagasi*.

De acordo com Pacheco (1998) e Garcia-Navarro (2005) a cilindrúria está associada a alterações na função renal, entretanto o aparecimento de cristais no

sedimento é um achado inespecífico, não sendo referenciado na LVC.

Em relação à urocultura, microorganismos foram isolados em 35% (7/20) das amostras de urina, sendo que em 20% (4/20) das amostras foram identificados a presença de *Staphylococcus* spp, 15% (3/20) *Shigella sonnei*, 5% (1/20) *Streptococcus* spp, 5% (1/20) *Providencia stuartii*, além de infecções mistas em 10% (2/20) das amostras.

Segundo Bush (1976) deficiências nos mecanismos imunológicos podem favorecer o desenvolvimento de infecções do trato urinário por via hematogena e/ou linfática e principalmente, por via urinária ascendente.

Meyer et al. (1995) afirmam que a urina normal coletada por cistocentese está isenta de bactérias, sendo a presença, indicação de processos infecciosos.

Segundo Oxenford et al. (1984), *Escherichia coli* e *Proteus* spp seguidos de *Staphylococcus* spp e *Streptococcus* spp são os microorganismos mais comumente encontrados em cães com infecção do trato urinário, havendo relatos do envolvimento de *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp, *Micrococcus* spp, *Corynebacterium* spp, *Citrobacter freundii*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterobacter* spp, *Providencia rettgeri* e *Salmonella enterica* na etiologia desta patologia (MITRA et al., 1994; KOGIKA et al., 1995; RIBEIRO et al., 2003). Entretanto, a prevalência das diferentes espécies de bactérias pode variar consideravelmente de estudo para estudo (ÇETIN et al., 2003).

Apesar de se isolar neste estudo bactérias das espécies *Shigella sonnei* e *Providencia stuartii*, Oxenford et al. (1984) e Ribeiro et al. (2003) afirmaram que estes microorganismos não são relatados como agentes infecciosos no trato urinário de cães, naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Conclusão

Em áreas endêmicas para LVC, os caninos que apresentarem alterações na urinálise caracterizada principalmente por

proteinúria e cilindrúria, devem ser investigados quanto à infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi*.

Referências

ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Leishmaniose Visceral Canina. **Schering-Ploug**, Encarte Técnico, 2005, 14p.

BUSH, B.M. A review of the aetiology and consequences of urinary tract infections in the dog. **British Veterinary Journal**, v.132, n.6, p. 632-641, 1976.

CARAVACA, F. et al. Acute renal failure in visceral leishmaniasis. **American Journal of Nephrology**, v.11 p.350-352, 1991.

ÇETIN, C. et al. Bacteriological examination of urine samples from dogs with symptoms of urinary tract infection. **Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v.27, p.1225-1229, 2003.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **Compendium on continuing Education for the Practicing Veterinary**, v.25, n.5, p.358-369, 2003.

CIARAMELLA, P. et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **The Veterinary Record**, v.141, n.22, p.539-543, 1997.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3 ed. São Paulo. Manole, 1984. 566p.

COSTA, F.A.L. et al. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v.40, p.677-684, 2003.

COUNCILMAN, W.T. Acute interstitial nephritis. **Journal of The Experimental Medicine**, v.3, p.393-420, 1998.

DIBARTOLA, S.P. Abordagem clínica e avaliação laboratorial da afecção renal. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. 4.ed. São Paulo: Manole, v.2, 1997. p.2355-2373.

- FEITOSA, M.M. Leishmaniose visceral: um desafio crescente. **Intervet Pet**, São Paulo, 2001. 14p.
- FEITOSA, M.M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, Ano 5, n.28, p.36-44, 2000.
- FERRER, L.M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. From canine leishmaniasis update In: OF THE CANINE INTERNACIONAL LEISHMANIASIS FORUM, 1999, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona: Killick- Kendrick, 28-31 January, 1999. p. 6-10.
- GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Urinálise Veterinária**, 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 95p.
- GOTO, H.; LINDOSO, J.A.L. Immunity and immunosuppression in experimental visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.4, p.615-623, 2004.
- KOGIKA, M.M. et al. Etiologic study of urinary tract infection in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.32, p.31-36, 1995.
- MEYER, D.J. et al. **Medicina de Laboratório Veterinário: Interpretação e Diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308p.
- MITRA, M. et al. Comparative efficacy of gentamicin, norfloxacin and nitrofurantoina against urinary tract infection in canine. **Indian Veterinary Journal**, v.71, p.1217-1220, 1994.
- NIETO, C.G. et al. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**, v.33, n.45, p.33-47, 1992.
- NOLI C. Leishmaniosis canina. **Waltham Focus**, v.9, p.16-24, 1999.
- NOVAES, B.C.B. **Avaliação das alterações estruturais em rins de cães (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania* (*Leishmania chagasi* (CUNHA E CHAGAS, 1937) e sua associação com a urinálise, e os níveis séricos de uréia e creatinina**. 2005. 51f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pós-graduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- OLIVEIRA, G.G.S. et al. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.88, p.243-248, 1993.
- OXENFORD, C.J. et al. Bacteriuria in the dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.25, p.83, 1984.
- PACHECO, R.G. **Exame de Urina em Medicina Veterinária**. Seropédica, RJ: EDUR, 1998. 129p.
- POCAI, E.A. et al. Leishmaniose visceral (calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.501-505, 1998.
- POLI, A. et al. Renal involvement in canine leishmaniasis: a light-microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. **Nephron**, v.57, p.444-452, 1991.
- RIBEIRO, M.G. et al. Infecção do trato urinário em cão por *Salmonella entérica* sorotipo *Enteritidis*. Relato de caso. **Clínica Veterinária**, n.43, p.30-37, 2003.
- SALGADO-FILHO, N. et al. Envolvimento da função renal em pacientes com leishmaniose visceral (Calazar). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.2, n.36, p.217-221, 2003.
- SLAPPENDEL, R.J. Canine leishmaniosis. A review based on 95 cases in the Netherlands. **Veterinary Quarterly**, v.10, p.1-16, 1988.
- SLAPPENDEL, R.J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Infections Diseases of the Dog and Cat**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1998. cap.73, p.450-458.
- SOARES, M.J.V. et al. Renal involvement in

visceral leishmaniasis dogs. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.11, n.4, p.579-593. 2005.

TAFURI, W.L. et al. Optical and electron microscopic study of the kidney of dogs naturally and experimentally infected with

Leishmania (Leishmania) chagasi. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v.3, p.139-145, 1989.

ZATELLI, A. et al. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, n.5, 2003.