

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Escola de Veterinária
Programa de Pós-graduação em Ciência Animal

Mariane Martins Wagatsuma

**AVALIAÇÃO DA MICROALBUMINÚRIA E DAS CORRELAÇÕES DAS
ALTERAÇÕES NO SEDIMENTO URINÁRIO E A RELAÇÃO PROTEÍNA
CREATININA URINÁRIA EM CÃES**

Belo Horizonte
2022

Mariane Martins Wagatsuma

**AVALIAÇÃO DA MICROALBUMINÚRIA E DAS CORRELAÇÕES DAS
ALTERAÇÕES NO SEDIMENTO URINÁRIO E A RELAÇÃO PROTEÍNA
CREATININA URINÁRIA EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho.

Belo Horizonte
2022

W129a Wagatsuma, Mariane Martins, 1993-
Avaliação da microalbuminúria e das correlações das alterações no sedimento urinário e a relação proteína creatinina urinária em cães / Mariane Martins Wagatsuma. – 2022.

64 f.
Inclui bibliografia e anexos: f. 56-64.

Orientadora: Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho.

Dissertação apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

1- Cão - doenças – Teses. 2- Albumina – Teses. I – Bicalho, Adriane Pimenta da Costa-Val. II – Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. V - Título.

CDD – 636.08



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
COLEGIADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

FOLHA DE APROVAÇÃO

MARIANE MARTINS WAGATSUMA

Dissertação submetida à banca examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL, como requisito para obtenção do grau de MESTRE em CIÊNCIA ANIMAL, área de concentração Medicina e Cirurgias Veterinárias.

Aprovado(a) em 23 de agosto de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Dr.(a). Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho - Presidente - Orientador(a)

Dr.(a). Fabiola Oliveira Paes Leme

Dr.(a). Daniela Bastos de Souza Karam Rosa



Documento assinado eletronicamente por **Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho, Cidadã**, em 24/08/2022, às 17:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fabiola de Oliveira Paes Leme, Professora do Magistério Superior**, em 25/08/2022, às 10:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniela Bastos de Souza Karam Rosa, Usuário Externo**, em 25/08/2022, às 19:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1695326** e o código CRC **27AD8DF8**.

Ao meu pai, Ticara Wagatsuma. Forte e inspirador, considerava que nada era tão importante como o conhecimento. Espero sempre fazer jus ao seu nome e a sua memória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me permitir chegar até aqui. À minha família e amigos, pelo apoio incondicional e pela força e incentivo de todos os dias.

À professora Adriane, pelo acolhimento e todo apoio ao longo do caminho. Obrigada por todos os ensinamentos, sinto-me privilegiada pela sua orientação. À professora Fabíola, sempre disponível para sanar dúvidas e ajudar. Obrigada pelo apoio.

À equipe do Hospital Veterinário São Francisco de Assis (médicos veterinários, clínicos e patologistas, auxiliares e estagiários) pelo auxílio durante as coletas e análises. À FOCO Vet, pela parceria fundamental ao trabalho.

Por fim, agradeço a eles, aos animais, que me ensinam todos os dias sobre o amor e por quem busco aprender e ser melhor a cada dia.

RESUMO

A microalbuminúria caracteriza-se como a detecção de quantidade anormal de albumina na urina, mas ainda em quantidade insuficiente para ser detectada pelas tiras reagentes tradicionalmente usadas nos exames de urina rotina. Pode ser atribuída a disfunções glomerulares ou tubulares e ser utilizada como um marcador para lesões e alterações vasculares sistêmicas. Na primeira parte do trabalho, objetivou-se avaliar a microalbuminúria em cães pelos métodos de imunoturbidimetria e por tiras reagentes semi-quantitativas, além da relação proteína creatinina urinária (RPCU) . Foram selecionados 80 cães que apresentaram resultado negativo ou traços de proteína na urina pela tira reagente convencional e $RPCU < 0,5$. Esses animais foram categorizados de acordo com sua suspeita clínica e/ou comorbidades. Não foram detectadas diferenças significativas entre os sexos para as variáveis RPCU, microalbuminúria pela tira reagente e microalbuminúria pela imunoturbidimetria. Não foi observada correspondência na avaliação da microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e pela imunoturbidimetria, também não houve correspondência destas com a RPCU. Foi possível detectar microalbuminúria em cães com doença periodontal e em cães que buscaram atendimento para avaliações de rotina e que tiveram resultados de RPCU dentro da normalidade. Observou-se microalbuminúria em cães com DRC, leishmaniose, dermatite atópica canina e doença inflamatória intestinal que tiveram resultados de RPCU considerados como limítrofe. Existem poucos estudos controlados que avaliam o real impacto da inflamação e hemorragia do trato urinário na proteinúria em cães e não há concordância total entre eles. Também não há estudos que correlacionem a presença de células e cilindros à proteinúria em cães. Assim, na segunda parte do trabalho, objetivou-se avaliar, em estudo retrospectivo, as alterações da sedimentoscopia nos exames de urina rotina realizado em cães e correlacionar com os seus valores da RPCU. Foram avaliados 250 exames de urina rotina e RPCU. Foi observado correlação da RPCU com as variáveis proteína pela tira reagente, totais de cilindros, cilindros granulosos, bactérias, pH, cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio. Além disso foi vista correlação marginalmente significativa com cristais de xantina e leucócitos. Não foi observada correlação da RPCU com a variável idade. As variáveis hemácias e total de células não tiveram correlação significativa com a RPCU.

Palavras-chave: microalbuminúria; proteinúria; RPCU; sedimento; urinálise.

ABSTRACT

Microalbuminuria is characterized as the detection of an abnormal amount of albumin in urine, but still in an amount insufficient to be detected by reagent strips traditionally used in routine urine tests. It can be attributed to glomerular or tubular dysfunctions and can be used as a marker for lesions and vascular changes at the systemic level. Microalbuminuria has been identified in dogs in earlier stages than other changes in urine. In the first part of the study, the objective was to evaluate microalbuminuria in dogs using immunoturbidimetry and semi-quantitative test strips and the urine protein:creatinine (UPC) ratio. Eighty dogs were selected that presented negative results or traces of protein in urine in conventional test strips and UPC ratio < 0.5 . These animals were categorized according to their clinical suspicion and/or comorbidities. No significant differences between the sexes were detected for the variables UPC ratio, microalbuminuria by strip tests and microalbuminuria by immunoturbidimetry. No correspondence was found in the evaluation of microalbuminuria by the semi-quantitative reagent strips and immunoturbidimetry, and there was no correspondence with the evaluation of the UPC ratio. It was possible to detect microalbuminuria in dogs with periodontal disease and in dogs that sought care for routine tests and had UPC ratio results within the normal range. Microalbuminuria was also observed in dogs with CKD, leishmaniasis, canine atopic dermatitis and inflammatory bowel disease with UPC ratio results considered borderline. Few controlled studies evaluated the actual impact of urinary tract inflammation and hemorrhage on proteinuria in dogs, and they do not fully agree with one another. In addition, no studies correlate the presence of cells and casts to proteinuria in dogs. Therefore, in the second part of the study, the objective was to evaluate, in a retrospective study, the changes in sediment examination in routine urine tests performed in dogs and correlate them with their UPC ratio values. A total of 250 routine urine tests and UPC ratios were evaluated. A correlation was observed between the UPC ratio and the variables protein per reagent strip, total casts, granular casts, bacteria, pH, urate crystals and calcium carbonate crystals. In addition, a marginally significant correlation was observed with xanthine crystals and leukocytes. There was no correlation between the UPC ratio and age. The variables red blood cells and total cells had no significant correlation with the UPC ratio.

Keywords: microalbuminuria; proteinuria; sediment; UPC ratio; urinalysis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Gráfico de dispersão da correlação entre microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e a RPCU.....	34
Figura 2 - Gráfico Box-plot de valores de microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa (MICRO FITA) entre os grupos	34
Figura 3 - Gráfico Box-plot de valores de RPCU entre os grupos	35
Figura 4 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU E Proteína pela tira reagente (PROT. FITA)	48
Figura 5 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e bactérias	49
Figura 6 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e total de cilindros (TOTAL CILIND.)	49
Figura 7 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e leucócitos	49
Figura 8 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e hemácias	50
Figura 9 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e idade	50

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequência por raça da população canina	29
Gráfico 2 – Frequência quanto à comorbidades e suspeitas clínicas da população canina	29
Gráfico 3 - Frequência por raça da população canina	44
Gráfico 4 - Frequência quanto à comorbidades e suspeitas clínicas da população canina	44
Gráfico 5 – ACP entre todas as variáveis do trabalho	51
Gráfico 6 – ACP atualizada entre as variáveis do trabalho	52
Gráfico 7 – Correlação entre sexo e as variáveis do trabalho	52
Gráfico 8 – Avaliação do Grupo 3 (Cistite) com as variáveis do trabalho	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Grupos de animais de acordo com sua comorbidade/suspeita clínica	30
Tabela 2 – Resultados dos valores de proteína em fita reagente, RPCU, microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e microalbuminúria pela imunoturbidimetria	31
Tabela 3 – Valores de média, mediana, valores mínimos, máximos, desvio-padrão e valor-p teste de Mann-Whitney da RPCU e microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa de acordo com o sexo	32
Tabela 4 – Valores de média, mediana, mínimos, máximos e desvio-padrão por grupo de RPCU e microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa	33
Tabela 5 – Grupos de animais de acordo com sua comorbidade/suspeita clínica	45
Tabela 6 – Análise estatística descritiva de RPCU, hemácias, leucócitos e bactérias por grupos e geral	45
Tabela 7 – Análise estatística descritiva de células, cristais e cilindros do trabalho por grupos e geral	46
Tabela 8 – Análise estatística descritiva de cilindros por grupos e geral	47
Tabela 9 – Correlação entre RPCU e os elementos avaliados	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	Análise de Componentes Principais
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
DRC	Doença renal crônica
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IRIS	International Renal Interest Society
ITU	Infecção do trato urinário
RAC	Relação albumina-creatinina urinária
RPCU	Relação proteína creatinina urinária
SIRS	Síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SRD	Sem raça definida
SSA	Ácido sulfossalicílico
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1. Microalbuminúria	16
2.2. Influência do sedimento urinário na RPCU	20
3. OBJETIVOS GERAIS	22
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4.1. Capítulo I: Avaliação da microalbuminúria em cães	19
4.2. Capítulo II: Correlação das alterações no sedimento urinário com a elevação da relação proteína-creatinina em cães	19
5. CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DA MICROALBUMINÚRIA EM CÃES	23
5.1. Introdução	25
5.2. Materiais e Métodos	26
5.3. Resultados	28
5.4. Discussão	35
5.5. Conclusões	38
6. CAPÍTULO II: CORRELAÇÃO DAS ALTERAÇÕES NO SEDIMENTO URINÁRIO COM A ELEVAÇÃO DA RELAÇÃO PROTEÍNA-CREATININA EM CÃES	39
6.1. Introdução	41
6.2. Materiais e Métodos	42
6.3. Análise estatística	43
6.4. Resultados	43
6.5. Discussão	53
6.6. Conclusões	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	62

1. INTRODUÇÃO GERAL

A urina de cães com rins normais pode conter pequena quantidade de proteína, aproximadamente 1 mg/dL. Dessa forma, o termo proteinúria é utilizado quando há a detecção de quantidade anormal de proteínas na urina (Lees et al., 2005; Pressler, 2013).

A proteinúria pode ser classificada em pré-renal, renal e pós-renal. A proteinúria pré-renal ocorre quando há composição plasmática alterada de proteínas que atravessam a barreira de filtração glomerular, cuja permeabilidade está normal. São causas de proteinúria pré-renal a hemólise intravascular, mioglobínúria por lesão muscular, proteínas de fase aguda liberadas devido a inflamação ou proteínas de Bence-Jones. (Lees et al., 2005)

A proteinúria renal ocorre pelo manejo anormal de proteínas pelo rim e é subclassificada como funcional ou patológica. A proteinúria renal funcional ocorre por uma alteração da fisiologia renal em resposta a um fenômeno transitório, como exercícios e febre. Já a proteinúria renal patológica pode ser causada por doenças glomerulares, tubulares ou intersticiais (Lees et al., 2005).

A proteinúria pós-renal refere-se às proteínas que adentram ao trato urinário distal à pelve renal. As causas mais comuns são processos exsudativos ou hemorrágicos do trato urinário inferior, quando é chamada de proteinúria pós-renal urinária, ou do trato genital, quando é classificada como proteinúria pós-renal extraúrinária (Lees et al., 2005).

Estudos recentes mostraram que nos cães, assim como nos seres humanos, a proteinúria renal persistente está associada, com maior frequência, à morbidade e mortalidade por causas renais e mortalidade por outras causas, além de aumentar o risco de desfechos ruins à medida que se eleva o grau de proteinúria (Jacob et al., 2005). A proteinúria é um fator prognóstico negativo para doença renal crônica (DRC) e está associada à maior risco de crise urêmica, agravamento progressivo da azotemia e morte (Harley e Langston, 2012).

O plasma contém cerca de 4 g/dL de albumina, já o filtrado glomerular de cães e gatos saudáveis contém aproximadamente 2 a 3 mg/dL de albumina. Esta pequena quantidade de albumina é quase completamente reabsorvida pelas células do epitélio tubular e degradada posteriormente por lisossomos. A reabsorção ocorre principalmente nos túbulos contorcidos proximais e reduz a concentração de albumina, na urina normal, para menos de 1 mg/dL (Grauer, 2011).

Conjectura-se que a proteinúria, além de marcador, possa ser causadora de injúria glomerular e tubulointersticial (Lees et al., 2005). Acredita-se que a lesão tubular renal em

nefropatias com proteinúria ocorra pela captação tubular excessiva de proteínas filtradas ou substâncias ligadas a proteínas (Meyer, 2003). O excesso de proteína na urina pode lesar os túbulos renais por vias tóxicas, mediadas por receptores ou por uma sobrecarga nos mecanismos de degradação lisossomal. Quantidades elevadas de proteínas filtradas que se acumulam no lúmen do túbulo proximal e, após endocitose, nas células destes túbulos podem contribuir para a lesão tubulointersticial renal por meio de uma complexa cascata de eventos intracelulares. Lipídeos de baixo peso molecular ligados às proteínas filtradas podem ser liberados durante a reabsorção. Esses lipídeos possuem propriedades inflamatórias que podem promover injúria tubulointersticial. Além disso, após a reabsorção tubular de água no túbulo contorcido distal, a elevada quantidade de proteínas no filtrado pode levar à formação de cilindros que obstruem estes túbulos (Jacob et al., 2005).

As doenças glomerulares são causas comuns de nefropatia em cães. Uma de suas características são danos à parede dos capilares, resultando em albuminúria. A albuminúria por sua vez, pode resultar em inflamação tubulointersticial e fibrose pela sobrecarga dos lisossomos (Erkan, 2013). Miyakawa e colaboradores (2021) demonstraram que valores elevados de relação albumina-creatinina urinária (RAC) estão associados à progressão da DRC em cães, refletindo a nefrotoxicidade da albuminúria.

A proteinúria renal é um marcador de lesão importante, podendo ser indicativa de eventos que alterem a permeabilidade seletiva da barreira de filtração glomerular, como a presença de imunocomplexos, inflamação vascular, hipertensão glomerular ou de eventos que alterem a capacidade de reabsorção tubular (Lees et al., 2005).

Em muitos casos, as lesões renais que causam proteinúria persistente em cães são iniciadas por processos patológicos em outros órgãos ou locais, como por exemplo, a cavidade oral em uma condição de doença periodontal grave. Em animais criticamente enfermos, a microalbuminúria transitória ou uma proteinúria leve podem ocorrer como indicação de lesão endotelial generalizada, inclusive nos rins. Dessa forma, o achado de proteinúria renal persistente pode alertar para a existência de condições subclínicas e os rins, nestes casos, agem como “sentinelas” para auxiliar na detecção de tais condições (Lees et al., 2005). A proteinúria grave e persistente pode levar ao desenvolvimento da síndrome nefrótica que é uma combinação de proteinúria, hipoalbuminemia, ascite ou edema e, por vezes, hipercolesterolemia (Grauer, 2005).

O diagnóstico precoce da injúria renal permite uma terapêutica adequada e a melhora do prognóstico. Porém, tal detecção precoce pode ser uma situação desafiadora pois, as técnicas mais comumente utilizadas na rotina clínica, como a dosagem sérica de ureia e creatinina, são

úteis apenas quando já ocorreu um comprometimento importante do parênquima renal (Cortadellas et al., 2008). Isto porque alterações na concentração de creatinina sérica só ocorrem quando aproximadamente 60% a 75% de todos os néfrons já foram afetados (Pressler, 2013).

Várias metodologias diferentes podem ser usadas para detectar a proteinúria em cães, como testes semiquantitativos realizados na urinálise convencional, a determinação da relação proteína creatinina urinária (RPCU) e avaliação da concentração de albumina na urina. Cada um desses métodos tem sua aplicação e suas vantagens e devem ser utilizados de forma complementar (Lees et al., 2005). As tiras reagentes são fáceis de usar e fornecem resultados imediatos sobre o trato urinário do paciente e sobre a sua saúde sistêmica (Vientós-Plotts et al., 2018).

Embora a avaliação da excreção de proteínas urinárias feita em um pool de amostras de urina, coletadas em 24 horas, seja o padrão-ouro para quantificar a proteinúria, essa metodologia requer o uso de gaiolas metabólicas ou sondagens intermitentes, o que torna o procedimento inadequado para o uso na rotina clínica veterinária. A avaliação da RPCU em amostras de urina de cães, demonstrou refletir, com acurácia, a quantidade de proteína excretada na urina durante um período de 24 horas (Grauer, 2005).

A avaliação da urina com testes que detectem a proteinúria deve fazer parte das avaliações de rotina dos cães aparentemente saudáveis e em quaisquer circunstâncias que levem seus veterinários a realizar avaliações hematológicas e bioquímicas. Os exames de urina devem consistir em avaliações semiquantitativas convencionais da concentração de proteínas através do uso de tiras reagentes. Devido ao fato dessas reações de teste colorimétrico com as tiras reagentes em amostras de urina, de cães e gatos, altamente concentradas ou altamente alcalinas ($\text{pH} > 7,5$) poderem ser falso-positivas, as reações positivas devem ser confirmadas com teste mais específico (Lees et al., 2005). É importante também, que a proteinúria detectada por esses métodos de triagem seja interpretada observando-se os valores de densidade específica da urina e os achados do sedimento urinário. Em urinas hiperestenúricas, achados como traços de proteínas podem ser atribuídos à concentração urinária e não a uma alteração patológica. Além disso, uma reação positiva para proteinúria, pela tira reagente, na presença de hematuria e piúria, pode ser atribuída à inflamação e hemorragia do trato urinário (Grauer, 2005).

Para animais sabidamente proteinúricos ou nos quais há suspeita de proteinúria, a determinação da RPCU deve ser realizada para orientar a tomada de decisão e monitorar as tendências, incluindo a resposta ou não aos tratamentos. No entanto, a variação nos valores de RPCU em cães com proteinúria estável sugere que as avaliações seriadas precisam diferir em até 40% para se concluir que houve mudança significativa da proteinúria (Lees et al., 2005).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Microalbuminúria

Embora o teste colorimétrico da tira reagente seja o teste de triagem inicial padrão para a detecção de proteinúria, a concentração de albumina na urina deve ser de no mínimo 30 mg/dL para ser detectada através desta metodologia (Harley e Langston, 2012; Pressler, 2013). O termo microalbuminúria é usado para descrever a detecção de quantidades anormais de albumina na urina, mas em quantidade insuficiente para ser detectada por tiras reagentes convencionais (Harley e Langston, 2012).

A microalbuminúria é geralmente definida como uma concentração de albumina na urina entre 0,01 e 0,30 g/l, ou 1 e 30 mg/dL (Grauer, 2005; Pressler, 2013). Valores acima de 30 mg/dL são denominados de macroalbuminúria, ou simplesmente, proteinúria (Pressler, 2013). A microalbuminúria persistente é a forma de menor magnitude de proteinúria renal que pode ser detectada com os métodos disponíveis atualmente (Lees et al., 2005). Também é definida como albuminúria subclínica, ou seja, excreção anormal de albumina, mas ainda não detectável por testes tradicionais como as tiras reagentes (Bacic et al., 2010).

A microalbuminúria pode ter causas pré-glomerulares, glomerulares ou pós-glomerulares e os cães devem ser testados somente após a exclusão de causas pré e pós-glomerulares. Não se recomenda testar pacientes com piúria, bacteriúria ou doença do trato urinário inferior, hiperglobulinemia com causas neoplásicas e cães que já apresentem RPCU elevada (Brown, 2009).

A microalbuminúria geralmente é atribuída a alterações na barreira de filtração glomerular, mas o manejo inadequado de albumina que atravessa a barreira de filtração glomerular normal e chega aos túbulos também pode causar ou contribuir para a microalbuminúria (Lees et al., 2005).

Afecções sistêmicas de grande magnitude ativam cascatas de citocinas que causam disfunções endoteliais aumentando a permeabilidade dos capilares endoteliais às proteínas plasmáticas. O rim manifesta essa alteração através do aumento da permeabilidade dos capilares glomerulares às proteínas plasmáticas. Pelo intenso aporte sanguíneo nos capilares glomerulares, o rim é o local ideal para manifestar pequenas mudanças da permeabilidade vascular sistêmica (Vaden et al., 2010).

A microalbuminúria pode ser utilizada como um indicativo de resposta inflamatória sistêmica precoce a um insulto agudo. Sugere-se a avaliação da microalbuminúria nas primeiras

48 horas após a admissão em uma unidade de terapia intensiva seguida de monitoramento contínuo. (Vaden et al., 2010).

A prevalência da microalbuminúria em cães foi avaliada em diversos estudos. Em um trabalho onde foram avaliados cães que possuíam algum problema de saúde, em um hospital veterinário, a prevalência foi de 30% (Pressler et al., 2001). Já em outro estudo onde foram avaliados 3041 cães de funcionários de diversos hospitais veterinários, a prevalência encontrada foi de 25% (Radecki et al., 2003). Também já foi relatado que o aumento da idade está relacionado com o aumento da albuminúria, independente de condições patológicas (Whittemore et al., 2006). Em um estudo realizado em uma unidade de tratamento intensivo, a albuminúria estava presente em 72% dos cães admitidos para estabilização e em 55% dos cães admitidos para cuidados pós-operatórios e a sua presença pôde ser correlacionada com um aumento significativos do risco de mortalidade (Vaden et al., 2010). A mesma conclusão foi observada em outro estudo realizado em unidades de terapia intensiva de duas universidades americanas (Whittemore et al., 2011).

O estudo de Lees e colaboradores (2002) avaliou cães com nefrite hereditária ligada ao cromossomo X, uma doença glomerular de rápida progressão, e nele foi possível encontrar microalbuminúria persistente até 16 semanas antes da macroalbuminúria, demonstrando que a microalbuminúria persistente pode ser um marcador precoce de doença renal em cães. Também já foi relatado que em cães com linfoma e osteossarcoma a microalbuminúria estava significativamente elevada e a RPCU se manteve dentro da normalidade (Pressler et al., 2003). Cães com dirofilariose desenvolveram microalbuminúria antes da proteinúria e, no momento do diagnóstico da microalbuminúria, já era possível detectar alterações histológicas de doença glomerular (Grauer et al., 2002).

A associação entre neoplasias e resultado positivo na avaliação da microalbuminúria pode ter importância clínica pois, muitas vezes, cães têm neoplasias de difícil diagnóstico e não identificadas em exames de rotina como hemograma e análises bioquímicas (Whittemore et al., 2006).

A microalbuminúria é a forma de proteinúria renal persistente que é mais provável de ser manifestada pelos animais que possuem a DRC subclínica indefinidamente estável, bem como a forma mais provável de ser manifestada por animais que realmente têm ou desenvolverão DRC progressiva. Aumentos progressivos na magnitude da microalbuminúria provavelmente são indicativos de lesão renal ativa e contínua e devem ser mais profundamente investigados (Lees et al., 2005). Além disso, a detecção da microalbuminúria pode permitir o diagnóstico precoce de alterações patológicas na excreção de proteínas urinárias, ocorrendo

tanto em doenças glomerulares primárias ou doenças inflamatórias sistêmicas que podem lesionar secundariamente os rins (Pressler, 2013).

Em cães, a microalbuminúria é evidência de proteinúria renal persistente quando é encontrada em 3 ou mais amostras obtidas com 2 ou mais semanas de intervalo, descartando-se causa pós-renal (Lees et al., 2005).

A avaliação laboratorial da microalbuminúria é recomendada quando os resultados das avaliações convencionais para proteinúria são negativos em cães com doenças crônicas graves e especialmente naquelas afecções que são conhecidas por desenvolverem nefropatias proteinúricas. A microalbuminúria também pode ser avaliada quando os resultados dos testes convencionais para proteinúria são negativos em cães aparentemente saudáveis com 6 anos ou mais e o uso de testes mais sensíveis são desejados pelo veterinário ou tutor do animal. Além disso, pode ser avaliada em cães que estão em risco de desenvolver uma doença renal glomerular, como em indivíduos de raças ou famílias geneticamente predispostas, nos quais se faz monitoramento periódico para detecção precoce dessa condição (Lees et al., 2005). Um trabalho realizado em 2019 (Ioannis e colaboradores) sugeriu o potencial uso da RAC como parâmetro de prognóstico e de previsão de duração da SIRS (síndrome da resposta inflamatória sistêmica) em cães naturalmente infectados com o vírus da parvovirose.

Em um estudo realizado em 2010 (Bacic e colaboradores) com cães portadores de DRC, metade apresentou concentrações de albumina na urina na faixa macroalbuminúrica, 32,5% foram microalbuminúricos e 17,5% foram não-albuminúricos, o que justifica o uso de métodos de rotina para detecção de microalbuminúria nesses grupos. Além disso, sugere-se que a avaliação da microalbuminúria pode ser utilizada ao monitorar o tratamento e progressão da doença em cães microalbuminúricos e não-albuminúricos com DRC. A microalbuminúria também pode ser utilizada no acompanhamento de cães hipertensos não-proteinúricos para avaliar a progressão da doença e estabelecer abordagens terapêuticas e preventivas, quando se detecta um aumento progressivo nos seus valores (Bacic et al., 2010).

A microalbuminúria pode ser medida através da avaliação da excreção urinária de albumina na urina produzida em 24 horas ou pela concentração de albumina na urina em uma amostra única (Whittemore et al., 2006). A medição da taxa de excreção urinária de albumina requer que seja coletada toda a urina produzida por um período de 24 horas e a sua quantificação é feita por radioimunoensaio, ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), imunoturbidimetria ou nefelometria (Gilbert et al., 1992). Esse método de coleta é pouco prático em pacientes veterinários, inviabilizando esta técnica. Ao se avaliar a albumina urinária em apenas uma amostra, assume-se que a taxa de produção de urina e sua excreção estão normais.

O cálculo da RAC é altamente correlacionado com a avaliação da albumina em 24 horas e corrige a variabilidade da concentração urinária e da diurese ao longo do dia (Singh e Satchell, 2011).

Devido à facilidade e praticidade de uma única coleta de urina, os pacientes humanos são triados para microalbuminúria usando-se tiras de teste semiquantitativas e, posteriormente, testes quantitativos adicionais são requeridos (Winocour, 1992). A vantagem de se utilizar testes de microalbuminúria com tiras reagentes é a possibilidade de se testar os pacientes no local de atendimento e realizar a triagem para doenças glomerulares de forma precoce (Pressler et al., 2002).

A acurácia na detecção de albumina na urina de cães foi avaliada utilizando tiras reagentes destinadas a determinar a microalbuminúria em humanos. Os resultados mostraram que ela não teve concordância com a microalbuminúria avaliada pelo teste de ELISA em cães. A albumina canina e humana são altamente homólogas, mas as pequenas diferenças entre elas podem ter sido as causadoras dessa falha (Pressler et al., 2002). Em 2006, Whittemore e colaboradores demonstraram que o uso de uma tira reagente destinada a detectar microalbuminúria em cães melhorou a sensibilidade do diagnóstico de doenças subclínicas quando utilizada em conjunto com outros testes de triagem.

Foi padronizado um teste rápido semiquantitativo espécie-específico para detecção da microalbuminúria canina (E.R.D.® – HealthScreen; Heska, Loveland, Colorado) em que a urina é diluída para uma concentração padrão e o resultado é expresso em: negativo, positivo baixo, positivo médio e positivo alto (Pressler, 2013). Este teste demonstrou boa concordância com tiras reagentes convencionais, com a RPCU e com o teste do SSA (Ácido sulfossalicílico) (Garner e Wiedmeyer, 2007). Outro estudo realizado em 2009 comparou o uso de tiras reagentes semiquantitativas caninas, a eletroforese de proteínas e um ensaio imunoturbidimétrico para avaliar a microalbuminúria em cães e concluiu que as tiras reagentes (ERD®-HealthScreen) levaram a um número considerável de resultados falso-positivos e falso-negativos quando comparados com o método imunoturbidimétrico (Murgier et al., 2009). Atualmente, este teste teve sua distribuição descontinuada pela empresa.

Em 2005 foi validado um ensaio imunoturbidimétrico destinado para uso humano para avaliar a albumina urinária em cães (Gentilini et al., 2005). Consistiu em um teste quantitativo em que se avaliou os resultados pela medição da aglutinação causada pela reação de anticorpos policlonais anti-albumina e a albumina canina na amostra de urina (Whittemore et al., 2006). De acordo com Whittemore e colaboradores (2006) os ensaios quantitativos e semiquantitativos são mais específicos do que as avaliações com tira reagente para perda de proteína na urina e

por isso podem ser utilizados para confirmar resultados positivos obtidos com este teste.

Antes do tratamento, deve ser demonstrado que a proteinúria é persistente e de origem renal. As causas pré e pós renais de proteinúria devem ser descartadas antes de serem solicitados outros exames e de se iniciar o tratamento (Grimes et al., 2020). Após o diagnóstico de proteinúria renal persistente, devem ser tomadas ações que dependerão da magnitude da proteinúria e do estado clínico do paciente (Lees et al., 2005).

Enquanto o tratamento para a proteinúria é altamente recomendado, ainda não está claro se cães microalbuminúricos devem sofrer alguma intervenção terapêutica. Recomenda-se avaliar a RPCU nos cães em que a microalbuminúria foi detectada para quantificar a gravidade da proteinúria (Pressler, 2013). Raças com histórico de doenças glomerulares hereditárias podem ser monitoradas mais frequentemente para detectar aumentos de magnitude da microalbuminúria. Em cães persistentemente microalbuminúricos, pode ser aconselhável demais exames para detecção de doenças glomerulares e outras patologias inflamatórias extra renais (Pressler, 2013).

2.2. Influência do sedimento urinário na RPCU

A interpretação dos exames que avaliam a quantidade de proteína na urina deve ser acompanhada do resultado do exame de urinálise. Por vezes, a inflamação e hemorragia do trato urinário são consideradas como causas da proteinúria em cães, porém, existem poucos estudos controlados a este respeito (Vaden et al., 2004).

Já foi reportado que a proteinúria pode ser encontrada em amostras de urina com sinais de inflamação e hemorragia (Grauer et al. 1985, Bagley et al., 1991) e nesses casos não é possível definir qual a causa da proteinúria. Porém, os mesmos autores (Bagley et al., 1991), também citam que seria possível que uma pequena contaminação sanguínea de uma amostra de urina, com sedimento mostrando 5-20 hemácias por campo, poderia não ter influência ao se avaliar proteinúria grave.

Em 2004, Vaden e colaboradores demonstraram que a contaminação com baixa quantidade de sangue (0,0039 – 0,25%) não alterou o valor da RPCU em cães, acontecendo o mesmo inclusive com amostras descritas como vermelho-claro ou róseas.

A hematúria pode estar presente em pacientes com patologias no trato urinário ou nos casos em que o sangramento foi ocasionado durante a coleta por cistocentese. A presença de sangue que altere a cor da urina potencialmente afeta a cor das almofadas da tira reagente e,

consequentemente, os seus resultados que são baseados em colorimetria. Além disso, o sangue também afeta a composição da urina e adiciona outros elementos, como proteínas por exemplo. (Vientós-Plotts et al., 2018).

Os poucos estudos dedicados a avaliar a interferência da contaminação com sangue na RPCU em cães tiveram resultados conflitantes. Um estudo demonstrou que uma contaminação de sangue de $\geq 0,125\%$ pode aumentar a RPCU, mas se a urina permanecer amarela (hematúria microscópica), é improvável que valores de $RPCU > 0,5$ se devam à hematúria. No entanto, a contaminação por sangue que resulta na coloração vermelha da amostra de urina (hematúria macroscópica) pode aumentar a RPCU acima do intervalo normal (Jillings et al., 2019). Em outro estudo, foi demonstrado que cães com cistite experimental e com hematúria desenvolveram proteinúria substancial (Bagley et al., 1991). Vientós-Plotts e colaboradores (2018) concluíram que a contaminação microscópica com sangue pode afetar a RPCU.

Em um estudo demonstrou-se que a grande maioria das amostras piúricas não foram albuminúricas e mantiveram valores normais de RPCU, sugerindo que pode haver outras fontes de inflamação do trato urinário que estariam associadas à proteinúria (Vaden et al., 2004). Os autores indicam a necessidade de se ter cautela antes de atribuir a proteinúria imediatamente à piúria, sem excluir causas pré-glomerulares ou glomerulares. Também já foi descrita a impossibilidade de associar alterações nos valores de RPCU à presença de bacteriúria (Meindl et al., 2019). Apesar disso, ainda não se sabe se determinadas espécies de bactérias podem incitar uma resposta inflamatória mais intensa, de forma a causar alterações nos valores de RPCU. O mesmo estudo demonstrou que um quinto (21,5%) das amostras de urina com sedimento ativo apresentaram valores normais de RPCU.

Pesquisadores concluíram que, em humanos, não há evidências que a bacteriúria subclínica cause proteinúria e microalbuminúria. Porém, em pacientes com pielonefrite foi observado associação com a proteinúria de origem tubular, incluindo a albumina, o que não pôde ser observado nos casos de cistite (Carter et al., 2006). O mesmo foi demonstrado em um estudo retrospectivo realizado com 1049 urinas de cães, em que não foi possível correlacionar bacteriúria em cães com alterações nos valores de RPCU (Strachan et al., 2022). Em outro estudo, observou-se que não houve diferença na RPCU de cães com sedimento ativo, comparado com a RPCU de cães com sedimento inativo (Rossi et al., 2012).

Há poucos estudos controlados que correlacionam as alterações na sedimentoscopia urinária com a proteinúria nos cães e não há concordância total entre eles. Também não há estudos que correlacionem a presença de células e cilindros à proteinúria em cães, o que justifica mais estudos na área.

3. OBJETIVOS GERAIS

Avaliar, em estudo prospectivo, a microalbuminúria em cães através de tiras reagentes semi-quantitativas e correlacionar com os valores encontrados pelo método de imunoturbidimetria e RPCU.

Correlacionar, em estudo retrospectivo, as alterações encontradas no sedimento urinário com elevações nos valores de RPCU.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.1. Capítulo I: Avaliação da microalbuminúria em cães

- Avaliar, em estudo prospectivo, a microalbuminúria em cães pelos métodos de tiras reagentes semi-quantitativas e imunoturbidimetria, além da RPCU.
- Correlacionar os valores de microalbuminúria obtidos com o método de tira reagente semi-quantitativa com os resultados encontrados na metodologia de imunoturbidimetria e com os valores de RPCU.
- Analisar a presença de microalbuminúria nos cães de acordo com seus diagnósticos definitivos ou presuntivos.

4.2. Capítulo II: Correlação das alterações no sedimento urinário com a elevação da relação proteína-creatinina em cães

- Avaliar, em estudo retrospectivo, as alterações da sedimentoscopia nos exames de urina rotina dos cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG no período de janeiro de 2020 a junho de 2021 e correlacionar com os valores da RPCU.

5. CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DA MICROALBUMINÚRIA EM CÃES

RESUMO

A microalbuminúria nos cães caracteriza-se como a detecção de quantidade anormal de albumina na urina, mas ainda em quantidade insuficiente para ser detectada pelas tiras reagentes tradicionalmente usadas nos exames de urina rotina. A microalbuminúria pode ser atribuída a disfunções glomerulares ou tubulares sendo um marcador para lesões e alterações vasculares a nível sistêmico, podendo ser identificada de forma mais precoce que outras alterações na urina, como elevação da RPCU ou macroalbuminúria. A coleta de urina por período de 24 horas não é facilmente realizada em pacientes veterinários. O uso de tiras de teste semiquantitativas para microalbuminúria representa possibilidade prática para ser utilizada na rotina de cães, onde seriam facilmente triados e encaminhados para exames posteriores. Portanto, objetivou-se avaliar a microalbuminúria em cães pelos métodos de imunoturbidimetria e por tiras reagentes semi-quantitativas e a sua correlação com a RPCU. Foram selecionados 80 cães que apresentaram resultado negativo ou traços de proteína na urina pela tira reagente convencional e $RPCU < 0,5$, oriundos do atendimento clínico de hospital veterinário localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais. Esses animais foram categorizados de acordo com sua suspeita clínica e/ou comorbidades. As comorbidades mais frequentes foram doença periodontal, avaliação de rotina ou pré-cirúrgico, leishmaniose, DRC e dermatite atópica canina. Não foram detectadas diferenças significativas entre os sexos para as variáveis RPCU, microalbuminúria pela tira reagente e microalbuminúria pela imunoturbidimetria. Não foi observada correspondência entre os métodos de microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e a RPCU. Por esse estudo também não foi possível obter a correlação da microalbuminúria pelo método de tira reagente e pela imunoturbidimetria. Ao se avaliar as diferenças de valores de microalbuminúria pela tira reagente entre os grupos, encontrou-se valor-p global marginalmente significativo ($p = 0,054$). Foi possível detectar microalbuminúria em cães com doença periodontal e em cães que foram ao hospital para avaliações de rotina com valores de RPCU dentro da normalidade. Também foi observado microalbuminúria em cães com DRC, leishmaniose, dermatite atópica canina e doença inflamatória intestinal que tiveram resultados de RPCU considerados como limítrofe.

Palavras-chave: albuminúria, imunoturbidimetria, microalbuminúria, proteinúria, relação proteína creatinina urinária, tira reagente

ABSTRACT

Microalbuminuria in dogs is characterized as the detection of an abnormal amount of albumin in urine, but still in an amount insufficient to be detected by reagent strips traditionally used in routine urine tests. Microalbuminuria can be attributed to glomerular or tubular dysfunctions and can be used as a marker for lesions and vascular changes at the systemic level. It has been identified in dogs in earlier stages than other changes in urine, such as high UPC ratio and macroalbuminuria. Urine collection in a 24-hour period is not easily performed in veterinary patients. Using semiquantitative test strips for microalbuminuria is a practical possibility to be utilized in the routine of dogs, in which they would be easily screened and referred for further examinations. Therefore, the objective was to evaluate microalbuminuria in dogs by immunoturbidimetry and by semi-quantitative reagent strips and the UPC ratio. We selected 80 dogs that presented negative results or traces of protein urine in conventional test strips and UPC ratio < 0.5 , from the clinical care of a veterinary hospital in Belo Horizonte, Minas Gerais. These animals were categorized according to their clinical suspicion and/or comorbidities. The most frequent comorbidities were periodontal disease, routine or pre-operative evaluation, leishmaniasis, CKD and canine atopic dermatitis. No significant differences between the sexes were detected for the variables UPC ratio, microalbuminuria by strip tests and microalbuminuria by immunoturbidimetry. No correspondence was observed between the methods of microalbuminuria by semi-quantitative reagent strip and the UPC ratio. In addition, this study did not find a correlation between microalbuminuria by reagent strip and immunoturbidimetry. When evaluating the differences in microalbuminuria values by reagent strip between the groups, a marginally significant global p-value was found ($p = 0.054$). It was possible to detect microalbuminuria in dogs with periodontal disease and dogs that went to the hospital for routine evaluations with normal UPC ratio values. Microalbuminuria was also observed in dogs with CKD, leishmaniasis, canine atopic dermatitis and inflammatory bowel disease with UPC ratio results considered borderline.

Keywords: albuminuria, immunoturbidimetry, microalbuminuria, proteinúria, reagent strip, urinary creatinine protein ratio

5.1. Introdução

A microalbuminúria, ou albuminúria subclínica, é definida como a detecção de quantidade anormal de albumina na urina, mas ainda em quantidade insuficiente para ser detectada pelas tiras reagentes convencionais, ou seja, valores entre 1 a 30 mg/dL (Bacic et al., 2010; Harley e Langston, 2012; Pressler, 2013). A microalbuminúria persistente é a forma de menor magnitude de proteinúria renal que pode ser detectada com os métodos disponíveis atualmente (Lees et al., 2005). Pode ser atribuída a alterações na barreira de filtração glomerular ou pela reabsorção inadequada de albumina que chega aos túbulos (Lees et al., 2005). Lesões sistêmicas de grandes magnitudes ativam cascatas de citocinas que causam disfunções endoteliais aumentando a permeabilidade dos capilares endoteliais às proteínas plasmáticas. O rim manifesta essa alteração através do aumento da permeabilidade dos capilares glomerulares às proteínas plasmáticas. Portanto, a microalbuminúria pode ser utilizada como um indicativo precoce de resposta inflamatória sistêmica a um insulto agudo (Vaden et al., 2010)

A prevalência da microalbuminúria em cães foi avaliada em alguns estudos e variou entre 25% e 30% (Pressler et al., 2001; Radecki et al., 2003). Em cães admitidos em unidades de terapia intensiva, a prevalência aumentou para 55% a 72% e a sua presença foi correlacionada com aumento do risco de mortalidade (Vaden et al., 2010; Whittemore et al., 2011). Também foi possível determinar que a microalbuminúria pode ser identificada em cães com diferentes patologias de forma mais precoce que outras alterações, como a elevação da RPCU e a macroalbuminúria (Lees et al., 2002; Grauer et al., 2002; Pressler et al., 2003).

A microalbuminúria pode ser medida através da avaliação da excreção urinária de albumina na urina produzida em 24 horas ou pela concentração de albumina na urina em amostra única (Whittemore et al., 2006). A medição da taxa de excreção urinária de albumina requer que seja coletada toda a urina produzida por período de 24 horas e a sua quantificação pode ser feita por radioimunoensaio, ELISA, imunoturbidimetria ou nefelometria (Gilbert et al., 1992), porém, esse método de coleta não é simples de ser realizado em pacientes veterinários. Devido à facilidade e praticidade de uma única coleta de urina, os pacientes humanos são triados para microalbuminúria usando-se tiras de teste semiquantitativas e, posteriormente, testes quantitativos adicionais são requeridos (Winocour, 1992). A vantagem de se utilizar testes de microalbuminúria com tiras reagentes é a possibilidade de se testar os pacientes no local de atendimento e realizar a triagem para doenças glomerulares de forma precoce (Pressler et al., 2002).

Foi avaliada a acurácia da detecção de albumina na urina de cães utilizando-se tiras

reagentes destinadas a mensurar a microalbuminúria em humanos e os resultados mostraram uma não concordância com a avaliação pelo ELISA em cães (Pressler et al., 2002). Em 2006, Whittemore e colaboradores demonstraram que o uso de uma tira reagente destinada a detectar microalbuminúria em cães melhorou a sensibilidade do diagnóstico de doenças subclínicas quando utilizada em conjunto com outros testes de triagem. Um estudo realizado em 2009 concluiu que o uso das tiras reagentes para detecção semi-quantitativa da microalbuminúria em cães (ERD®-HealthScreen) mostrou um número considerável de resultados falso-positivos e falso-negativos quando comparados com o método imunoturbidimétrico (Murgier et al., 2009). Em outro estudo, este mesmo teste (E.R.D. – HealthScreen; Heska, Loveland, Colorado) demonstrou boa concordância com tiras reagentes convencionais, com a RPCU e com o teste do SSA (Garner e Wiedmeyer, 2007) mas a sua distribuição foi descontinuada pela empresa. Em 2005, foi validado um ensaio imunoturbidimétrico destinado para uso humano, para avaliar a albumina urinária em cães (Gentilini et al., 2005). Consiste em um teste quantitativo em que se avalia os resultados pela medição da aglutinação causada pela reação entre anticorpos policlonais anti-albumina e a albumina canina na amostra de urina (Whittemore et al., 2006)

Ainda não está claro se cães microalbuminúricos devem sofrer alguma intervenção terapêutica. Recomenda-se avaliar a RPCU nos cães em que a microalbuminúria foi detectada para quantificar a gravidade da proteinúria. Em cães persistentemente microalbuminúricos, pode ser aconselhável demais exames para detecção de doenças glomerulares e outras patologias inflamatórias extra renais (Pressler, 2013).

No Brasil, está disponível uma tira reagente semi-quantitativa para a avaliação da microalbuminúria em cães (Mindray® -15) mas não há estudos sobre a sua utilização.

5.2. Materiais e métodos

O estudo foi conduzido após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMG, sob o protocolo de número 148/2021, conforme Anexo I.

Os tutores dos animais selecionados assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), que se encontra no Anexo II.

Foram selecionados 80 cães de ambos os sexos, idades e raças variadas que apresentaram resultado negativo ou traços de proteína na urina, pela tira reagente, e $RPCU < 0,5$, oriundos do atendimento clínico e ambulatorial de hospital veterinário localizado em Belo Horizonte, Minas Gerais. Esses animais foram categorizados de acordo com a suspeita clínica e/ou comorbidades.

5.2.1. Coleta de urina

As amostras de urina foram coletadas preferencialmente pelo método de cistocentese guiada por ultrassonografia. Os animais foram posicionados em decúbito dorsal, foi feita a antisepsia com clorexidina alcoólica 0,5% e a coleta foi realizada através de punção do bexiga com agulha de calibre 25 x 0,7 e seringa de 5 ml.

Nos casos em que não foi possível coletar as amostras pelo método de cistocentese guiada, a coleta foi realizada por sondagem uretral nos machos, precedida de higienização com clorexidina degermante a 2%.

5.2.2. Exames laboratoriais

As análises laboratoriais foram realizadas no laboratório de patologia clínica do hospital veterinário e no Multilab da Escola de Veterinária da UFMG.

Após a coleta, a urinálise foi realizada imediatamente e duas alíquotas de 2 ml de sobrenadante, obtidas após centrifugação, foram congeladas, a -20 °C, em microtubos, para posterior análise.

Urinálise: Foi feito o exame físico da urina, observando-se o seu aspecto, cor e odor. A densidade urinária foi avaliada com o uso do refratômetro. Realizou-se o exame químico da urina com o uso da fita reagente Mindray®-15, quando foram mensurados urobilinogênio, bilirrubina, leucócitos, cetonas, sangue, proteína, glicose, nitrito e pH pelo analisador UA-60V. Após isso, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante foi alíquotado e o sedimento depositado entre lâmina e lamínula para avaliação em microscópio óptico (20x e 40x). No exame microscópico do sedimento urinário foram avaliadas células epiteliais, hemácias, leucócitos, cristais, cilindros, bactérias, fungos ou leveduras, muco e espermatozóides.

Relação Proteína Creatinina Urinária (RPCU): Foi realizada por analisador bioquímico automático, Labtest® LW200, através de espectrofotometria e com os reagentes BIOPROT U/LCR e Creatinina Cinética – Bioclin®, utilizando-se parte do sobrenadante e seguindo as instruções do fabricante.

Imunoturbidimetria: A microalbuminúria foi avaliada no analisador bioquímico *TP Analyser* com o kit da BioTécnica®, utilizando-se outra porção do sobrenadante e seguindo as instruções do fabricante.

Avaliação da microalbuminúria pelas tiras reagentes semi-quantitativas: Foi realizada durante o exame de urinálise uma vez que a microalbuminúria é um dos componentes avaliados na fita Mindray® - 15.

5.2.3. Análise Estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas através do software R versão 3.6.1 (R Core Team, 2019).

Foi realizada análise descritiva do perfil dos animais para todas as variáveis. Também foi avaliada a correspondência entre as medidas realizadas pelas três metodologias distintas, ou seja, RPCU, microalbuminúria pelo método de imunoturbidimetria e microalbuminúria pelo método de tiras reagentes semi-quantitativas. Foi avaliado ainda se essa correspondência se modificava de acordo com cada comorbidade.

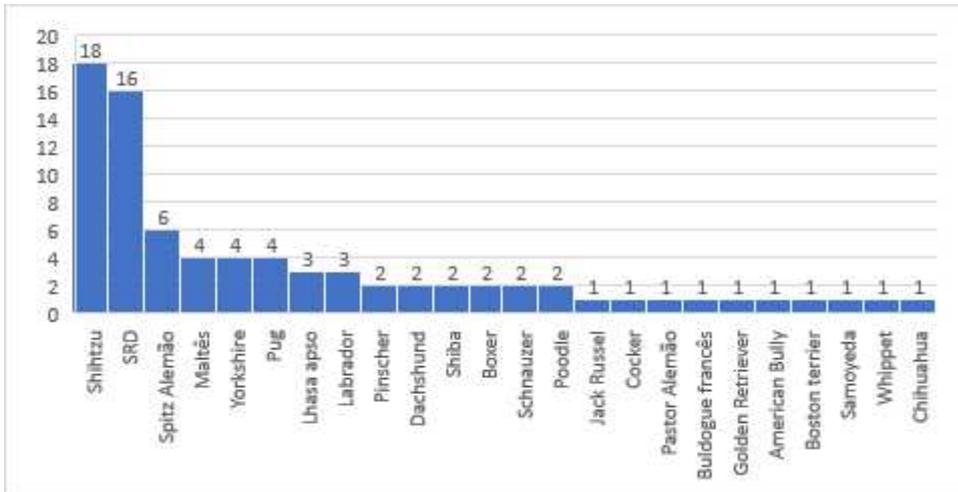
Para avaliar a correspondência entre os métodos, foi calculada a correlação linear de Pearson entre as medidas obtidas. Para avaliar as diferenças entre grupos, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de comparações múltiplas de Dunn.

5.3. Resultados

Dos 80 cães que tiveram suas amostras de urina avaliadas, 61 eram fêmeas e 19 machos. As idades variaram entre 4 meses e 16 anos, sendo a média 6,6 anos. As frequências de raças e comorbidades estão descritas nos gráficos 1 e 2, respectivamente.

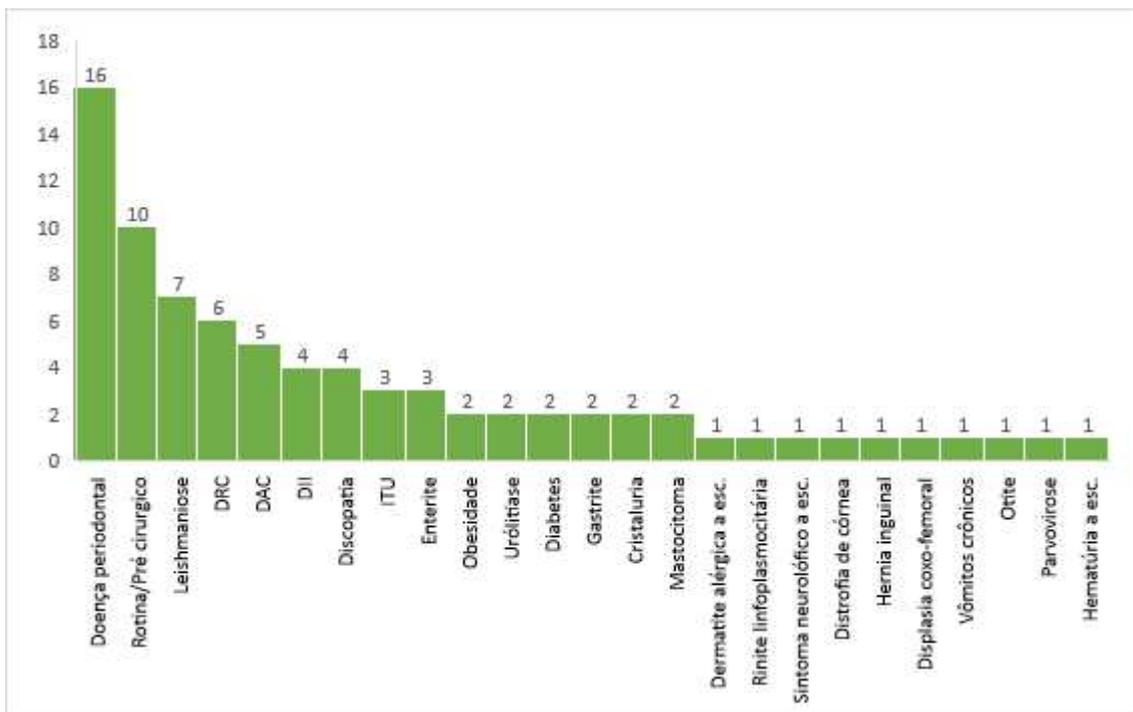
As raças mais comuns foram, em ordem decrescente, shihtzu, SRD (sem raça definida) e spitz alemão. As comorbidades mais frequentes foram, em ordem decrescente, doença periodontal, animais que foram ao hospital realizar exames de rotina ou pré-cirúrgico, leishmaniose, DRC e dermatite atópica canina.

Gráfico 1 – Frequência por raça da população canina



SRD = sem raça definida

Gráfico 2 – Frequência quanto às comorbidades ou suspeita clínica



DRC = doença renal crônica; DAC = dermatite atópica canina; DII = doença inflamatória intestinal; ITU = infecção do trato urinário; esc. = esclarecer.

Os animais foram alocados em 7 grupos de acordo com suas comorbidades e/ou suspeitas clínicas. Os grupos estão demonstrados na tabela 1. O grupo 7 englobou comorbidades que não puderam ser agrupadas nos demais grupos.

Tabela 1 – Grupos de animais de acordo com sua comorbidade/suspeita clínica

GRUPOS	COMORBIDADES/SUSPEITAS CLÍNICAS	QUANTIDADE
Grupo 1	Doença Renal Crônica	6
Grupo 2	Leishmaniose	7
Grupo 3	Doença periodontal	16
Grupo 4	Dermatite atópica canina	5
	Dermatite alérgica a esclarecer	1
Grupo 5	Doença inflamatória intestinal	4
Grupo 6	Rotina/Pré cirúrgico	10
Grupo 7	Infecção do Trato Urinário	3
	Obesidade	2
	Enterite	3
	Vômitos crônicos	1
	Gastrite	2
	Discopatia	4
	Rinite linfoplasmocitária	1
	Sintoma neurológico a esclarecer	1
	Urolitíase	2
	Diabetes	2
	Distrofia de córnea	1
	Hérnia inguinal	1
	Displasia coxo-femoral	1
	Otite	1
	Parvovirose	1
	Cristalúria	2
Hematúria a esclarecer	1	
Mastocitoma	2	

O resultado dos valores de proteína em fita reagente, RPCU, microalbuminúria pela fita reagente semi-quantitativa e microalbuminúria pela imunoturbidimetria em cada cão estão descritos na tabela 2.

Tabela 2 – Resultados dos valores de proteína em tira reagente, RPCU, microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e microalbuminúria pela imunoturbidimetria

Cão	Proteína – tira reagente	RPCU	Microalb. – tira reagente	Microalb. – imunoturbid.	Cão	Proteína – tira reagente	RPCU	Microalb. – tira reagente	Microalb. – imunoturbid.
1	traços	0,42	15 mg/dL	0 mg/L	41	traços	0,48	15 mg/dL	0,73 mg/L
2	traços	0,07	15 mg/dL	0,49 mg/L	42	-	0,1	15 mg/dL	0,27 mg/L
3	-	0,11	15 mg/dL	0,3 mg/L	43	-	0,2	3 mg/dL	0,62 mg/L
4	traços	0,18	15 mg/dL	2,85 mg/L	44	-	0,49	3 mg/dL	1,23 mg/L
5	-	0,21	8 mg/dL	0,32 mg/L	45	traços	0,42	15 mg/dL	2,83 mg/L
6	-	0,08	15 mg/dL	0,93 mg/L	46	traços	0,09	15 mg/dL	0,46 mg/L
7	-	0,22	3 mg/dL	0 mg/L	47	traços	0,09	15 mg/dL	0,59 mg/L
8	-	0,29	10 mg/dL	2,65 mg/L	48	traços	0,15	15 mg/dL	1,84 mg/L
9	-	0,11	1 mg/dL	0,05 mg/L	49	traços	0,13	15 mg/dL	0,77 mg/L
10	traços	0,11	15 mg/dL	0,86 mg/L	50	-	0,17	8 mg/dL	0,35 mg/L
11	traços	0,08	15 mg/dL	0 mg/L	51	traços	0,24	15 mg/dL	0,31 mg/L
12	traços	0,13	15 mg/dL	1,15 mg/L	52	-	0,4	8 mg/dL	0,48 mg/L
13	traços	0,09	15 mg/dL	0,21 mg/L	53	traços	0,07	15 mg/dL	1,83 mg/L
14	traços	0,1	15 mg/dL	0,1 mg/L	54	traços	0,24	15 mg/dL	1,64 mg/L
15	-	0,08	8 mg/dL	0,45 mg/L	55	traços	0,15	8 mg/dL	0,37 mg/L
16	traços	0,36	15 mg/dL	1,15 mg/L	56	traços	0,13	15 mg/dL	0,84 mg/L
17	-	0,08	8 mg/dL	1,22 mg/L	57	-	0,31	15 mg/dL	2,60 mg/L
18	traços	0,46	15 mg/dL	0,21 mg/L	58	traços	0,17	15 mg/dL	2,66 mg/L
19	traços	0,18	8 mg/dL	0 mg/L	59	-	0,4	8 mg/dL	1,92 mg/L
20	traços	0,23	15 mg/dL	2,13 mg/L	60	traços	0,17	15 mg/dL	0,54 mg/L
21	traços	0,17	15 mg/dL	1,91 mg/L	61	-	0,17	3 mg/dL	0,43 mg/L
22	-	0,1	8 mg/dL	0,77 mg/L	62	traços	0,22	15 mg/dL	2,85 mg/L
23	-	0,49	3 mg/dL	0,29 mg/L	63	-	0,05	15 mg/dL	0,62 mg/L
24	traços	0,15	15 mg/dL	1,87 mg/L	64	-	0,08	1 mg/dL	0,36 mg/L
25	-	0,05	8 mg/dL	1,53 mg/L	65	traços	0,12	15 mg/dL	0,76 mg/L
26	traços	0,07	15 mg/dL	0,76 mg/L	66	traços	0,4	15 mg/dL	2,38 mg/L
27	-	0,16	3 mg/dL	0,43 mg/L	67	traços	0,12	15 mg/dL	0,74 mg/L
28	-	0,11	8 mg/dL	1,82 mg/L	68	traços	0,12	15 mg/dL	0,82 mg/L
29	traços	0,16	15 mg/dL	0,45 mg/L	69	traços	0,3	15 mg/dL	0,93 mg/L

30	traços	0,11	15 mg/dL	0,4 mg/L	70	-	0,18	8 mg/dL	0 mg/L
31	-	0,09	15 mg/dL	0 mg/L	71	-	0,44	8 mg/dL	1,08 mg/L
32	traços	0,21	15 mg/dL	0,6 mg/L	72	traços	0,1	15 mg/dL	0,83 mg/L
33	-	0,1	8 mg/dL	2,08 mg/L	73	-	0,19	8 mg/dL	0,07 mg/L
34	traços	0,44	15 mg/dL	1,78 mg/L	74	traços	0,14	15 mg/dL	0,72 mg/L
35	-	0,35	8 mg/dL	2,19 mg/L	75	traços	0,47	15 mg/dL	2,80 mg/L
36	-	0,42	8 mg/dL	2,11 mg/L	76	-	0,11	8 mg/dL	1,84 mg/L
37	traços	0,1	15 mg/dL	2,09 mg/L	77	-	0,44	8 mg/dL	0,43 mg/L
38	traços	0,09	15 mg/dL	2,47 mg/L	78	traços	0,2	3 mg/dL	0,84 mg/L
39	traços	0,16	15 mg/dL	1,38 mg/L	79	-	0,17	3 mg/dL	3,51 mg/L
40	-	0,22	15 mg/dL	1,70 mg/L	80	traços	0,12	15 mg/dL	0,74 mg/L

RPCU = relação proteína creatinina urinária; Microalb. = microalbuminúria; Imunoturbid. = imunoturbidimetria

Através da metodologia de imunoturbidimetria, os valores mínimos encontrados foram de 0 mg/L e o valor máximo de 3,51 mg/L ou 0,35 mg/dL. Esses valores foram considerados falhos e discrepantes quando comparados aos da tira reagente semi-quantitativa.

A média, valores mínimos, máximos, mediana, desvio-padrão e valor-p teste de Mann-Whitney de cada resultado por sexo estão descritos na tabela 3.

Tabela 3 – Valores de média, mediana, valores mínimos, máximos, desvio-padrão e valor-p teste de Mann-Whitney da RPCU e microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa de acordo com o sexo

SEXO	RPCU					Valor-p teste de Mann-Whitney
	Média	Mediana	Mínimos	Máximos	Desvio-padrão	
Feminino	0,19	0,16	0,05	0,49	0,12	0,131
Masculino	0,25	0,17	0,08	0,49	0,15	
Masculino	0,84	0,48	0	2,8	0,85	
SEXO	MICROALBUMINÚRIA – TIRA REAGENTE SEMI-QUANTITATIVA (mg/dL)					Valor-p teste de Mann-Whitney
	Média	Mediana	Mínimos	Máximos	Desvio-padrão	
Feminino	11,90	15	3	15	4,26	0,750
Masculino	11,16	15	1	15	5,51	

Não foram detectadas diferenças significativas entre os sexos para as variáveis RPCU, microalbuminúria pela tira reagente e microalbuminúria pela imunoturbidimetria.

A média, valores mínimos e máximos, mediana e desvio-padrão de cada resultado por grupos está descrito na tabela 4.

Tabela 4 – Valores de média, mediana, mínimos, máximos e desvio-padrão por grupo de RPCU e microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa

GRUPO	RPCU				
	Média	Mediana	Mínimo	Máximos	Desvio-padrão
1	0,26	0,255	0,08	0,46	0,17
2	0,22	0,19	0,09	0,44	0,14
3	0,14	0,12	0,05	0,3	0,07
4	0,20	0,17	0,1	0,42	0,11
5	0,28	0,28	0,11	0,44	0,17
6	0,16	0,12	0,05	0,47	0,12
7	0,22	0,17	0,07	0,49	0,14
Geral	0,20	0,16	0,05	0,49	0,13
GRUPO	MICROALBUMINÚRIA – TIRA REAGENTE				
	Média	Mediana	Mín.	Máx.	Desvio-padrão
1	12,67	15	8	15	3,61
2	14,00	15	8	15	2,65
3	12,38	15	1	15	5,03
4	8,33	8	3	15	3,83
5	6,75	8	3	8	2,50
6	11,90	15	3	15	5,17
7	11,83	15	3	15	4,53
GERAL	11,73	15	1	15	4,56

Foi avaliada a correspondência entre os métodos RPCU e microalbuminúria pela tira reagente. Não foi observada correlação significativa entre microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e a RPCU de forma geral conforme ilustrado na figura 1.

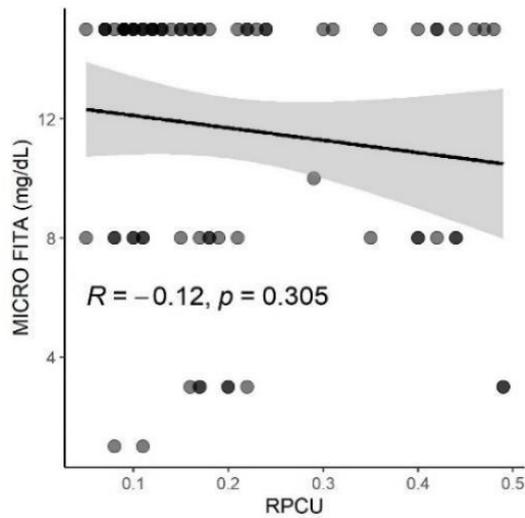


Figura 1: Gráfico de dispersão da correlação entre microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa e a RPCU

Testou-se as diferenças entre grupos de comorbidades para as variáveis RPCU e microalbuminúria pela tira reagente.

Foi observado um valor-p global marginalmente significativo para microalbuminúria pela tira reagente (0,054) conforme demonstrado nas figuras 2 e figura 3.

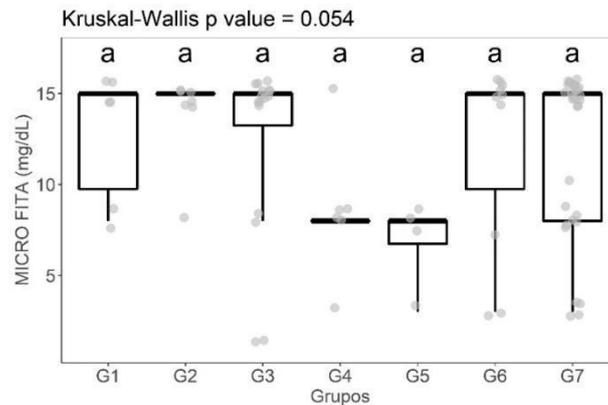


Figura 2: Gráfico Box-plot de valores de microalbuminúria pela tira reagente semi-quantitativa (MICRO FITA) entre os grupos.

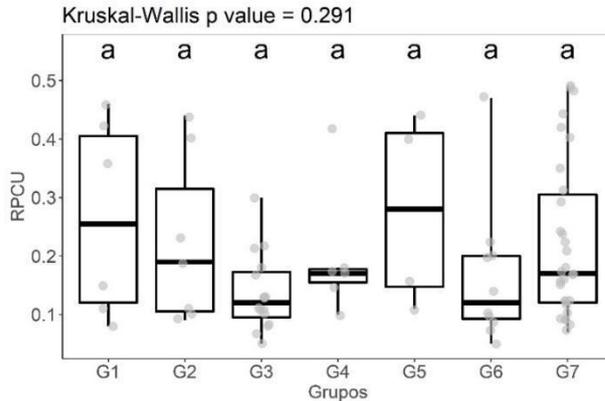


Figura 3: Gráfico Box-plot de valores de RPCU entre os grupos

5.4. Discussão

Diagnosticar lesões renais de forma precoce permanece sendo um desafio na medicina veterinária. A microalbuminúria representa o indicador mais precoce de manejo inadequado de proteínas pelo rim, seja a nível glomerular ou tubular. Além disso, pode demonstrar mudanças na permeabilidade vascular e indicar lesões sistêmicas. Porém, é preciso se atentar às possibilidades de interferências nesse exame e excluir as causas pré e pós-renais.

A praticidade de se poder testar o paciente no local de atendimento certamente aumentaria a avaliação da microalbuminúria em cães. Essa avaliação deve ser realizada como triagem, sendo fundamental que, posteriormente, testes quantitativos adicionais sejam feitos. A microalbuminúria persistente e especialmente a microalbuminúria com aumentos progressivos de sua magnitude, pode ser indicativa de lesão renal ativa e demonstrar a necessidade de maior investigação do caso.

Grande parte dos animais deste estudo foram ao atendimento clínico para avaliar a doença periodontal, que é de suma importância. Já foi sugerido em vários trabalhos que a doença periodontal pode levar à bacteremia e possível lesão em órgãos-alvo, sendo um deles, os rins (Harvey, 2022; McFadden e Marretta, 2013; Pereira dos Santos et al., 2019).

No presente estudo, o grupo 3, representado por animais com doença periodontal, não foi observado valores mais elevados de RPCU ou de microalbuminúria na fita reagente comparado a outros grupos, porém para esse trabalho foram selecionados apenas os animais que possuíam proteína negativa ou traços no exame da tira reagente. O valor médio de RPCU para esse grupo foi 0,14, considerado como não proteinúrico de acordo com a IRIS (*International Renal Interest Society*, 2019). De qualquer forma, a média de microalbuminúria pelo método de tira reagente para este grupo foi de 12,38 mg/dL, valor acima do que é

considerado normal, mas ainda insuficiente para ser detectado pelas tiras reagentes urinárias usadas na rotina, podendo este grupo ser considerado microalbuminúrico.

O mesmo ocorreu com os animais do grupo 6, que foram ao hospital para realizar exames de rotina ou pré-cirúrgicos. Pelo valor de 0,16 de RPCU, estes animais foram considerados não proteinúricos, porém, tiveram como média para microalbuminúria, pelo método de tira reagente, o valor de 11,9 mg/dL, caracterizando como microalbuminúricos.

Já foi determinado que a microalbuminúria pode ser identificada em cães com diferentes patologias de forma mais precoce que outras alterações, como a elevação da RPCU e a macroalbuminúria (Lees et al., 2002; Grauer et al., 2002; Pressler et al., 2003). O acompanhamento posterior desses animais com novas avaliações de RPCU e microalbuminúria poderia determinar se o mesmo ocorreria no presente estudo.

Os animais do grupo 1, portadores de DRC, e grupo 2, portadores de Leishmaniose, apresentaram valores médios de RPCU de 0,26 e 0,22, respectivamente. De acordo com a IRIS (2019) são classificados como proteinúricos limítrofes. O resultado da microalbuminúria pela tira reagente corrobora com este achado pois os valores médios foram de 12,67 mg/dL e 14 mg/dL, respectivamente. Esses animais são considerados microalbuminúricos e não macroalbuminúricos. Ainda não está claro se cães microalbuminúricos devem sofrer alguma intervenção terapêutica, porém, nesses casos em que se sabe que o animal tem grande risco de desenvolver proteinúria, a avaliação da microalbuminúria pode ser utilizada para monitorar o tratamento e a progressão da doença. Também é importante determinar se essa microalbuminúria é persistente ou transitória e se aumentará a magnitude. Recomenda-se avaliar a RPCU nos cães em que a microalbuminúria foi detectada para quantificar a gravidade da proteinúria. Em cães persistentemente microalbuminúricos, pode ser aconselhável outros exames para detecção de doenças glomerulares e outras afecções inflamatórias extra renais (Pressler, 2013).

Os animais do grupo 4, diagnosticados com dermatite atópica canina e dermatite alérgica a esclarecer, e do grupo 5, portadores de doença inflamatória intestinal, apresentaram valores médios de RPCU também classificados como proteinúria limítrofe, 0,2 e 0,28 respectivamente. Os seus valores de microalbuminúria pela tira reagente foram de 8,33 mg/dL e 6,75 mg/dL, respectivamente. Segundo a literatura atual, ainda não há correlação entre cães com dermatites alérgicas, como a dermatite atópica canina, e a presença de microalbuminúria. Já foi relatado a predisposição de cães com piodermite à proteinúria. Sugeriu-se que a proteinúria nesses casos pode ser consequência da deposição de imunocomplexos nos capilares glomerulares (Batamuzi et al., 1998). Em seres humanos, pôde-se associar o aumento da relação

albumina/creatinina urinária à dermatite atópica, mas seu mecanismo ainda é incerto (Kim et al., 2015).

Em um estudo realizado com 16 cães portadores de doença inflamatória intestinal idiopática (McCann et al., 2007) não foi observada correlação entre a doença e a microalbuminúria. Porém, estudos com seres humanos portadores de doença inflamatória intestinal obtiveram resultados diferentes. Um trabalho realizado em 2018 por Jang e colaboradores concluiu que crianças com doença inflamatória intestinal são mais propensas a apresentar sintomas renais do que crianças e adolescentes saudáveis. Os autores sugerem que nesses pacientes deve ser realizada triagem urinária de forma regular para a detecção precoce e tratamento imediato de complicações renais.

A microalbuminúria é definida como uma concentração de albumina na urina entre 1 e 30 mg/dL (Grauer, 2005; Pressler, 2013). Valores acima de 30 mg/dL são denominados de macroalbuminúria, ou simplesmente, proteinúria (Pressler, 2013). Segundo a metodologia da tira reagente semi-quantitativa utilizada neste estudo, os animais tiveram resultado de microalbuminúria entre 1 mg/dL a 15 mg/dL. Porém, o valor máximo aferido pela tira semiquantitativa é de 15 mg/dL, o que pode ter subestimado o valor real da albuminúria de alguns animais.

Através da metodologia de imunoturbidimetria, os valores encontrados foram de 0 mg/L e o valor máximo de 3,51 mg/L ou 0,35 mg/dL. O *kit* utilizado (BioTécnica) é composto por albumina humana. A albumina canina e a albumina humana compartilham homologia de 79% nas sequências de aminoácidos, porém os anticorpos monoclonais contra a albumina humana apresentam reatividade cruzada parcial com a albumina canina (Gentilini et al., 2005). Esse fato poderia explicar a falha dessa avaliação e os valores discrepantes quando comparados aos da tira reagente semi-quantitativa.

Não foi observada diferença estatística entre os sexos para as variáveis RPCU e microalbuminúria pela tira reagente, o que corrobora com estudo anterior em relação à avaliação da relação entre RPCU e gênero (Whittemore et al., 2006). Porém, vale ressaltar que, no presente estudo, não foram avaliados animais com $RPCU > 0,5$.

Não foi observada correspondência entre os métodos de microalbuminúria pela tira reagente e a RPCU. No entanto, a limitação de valor máximo da metodologia de microalbuminúria pela tira reagente, ou seja, até 15 mg/dL, pode ter contribuído para tal resultado.

Ao se avaliar as diferenças de valores de microalbuminúria pela tira reagente entre os grupos, encontrou-se um valor-p global marginalmente significativo ($p = 0,054$). O baixo

número amostral de alguns grupos pode ter influenciado nesse resultado.

5.5 Conclusões

Nas condições em que este estudo foi realizado, conclui-se que não há correlação entre os valores da microalbuminúria avaliados pelo método de tira reagente semi-quantitativa e os métodos de RPCU e imunoturbidimetria.

Microalbuminúria pode ocorrer em cães com doença periodontal ou mesmo em cães sem nenhuma alteração clínica evidente, em que a RPCU estava dentro dos valores considerados normais.

Valores limítrofes de RPCU em cães com DRC, leishmaniose, dermatite atópica canina e doença inflamatório intestinal podem ser indicativos de microalbuminúria.

6. CAPÍTULO II

CORRELAÇÃO ENTRE AS ALTERAÇÕES NO SEDIMENTO URINÁRIO E A RELAÇÃO PROTEÍNA-CREATININA URINÁRIA EM CÃES

Resumo

A avaliação da proteinúria é de suma importância na rotina médico veterinária e sua interpretação sempre deve ser acompanhada da avaliação da urinálise. Existem poucos estudos controlados que avaliam o real impacto da inflamação e hemorragia do trato urinário na proteinúria em cães. Além disso, não há concordância total entre eles. Também não há estudos que correlacionem a presença de células e cilindros à proteinúria em cães. Portanto, objetivou-se avaliar, em estudo retrospectivo, as alterações da sedimentoscopia nos exames de urina rotina realizados em cães e correlacioná-las aos valores da RPCU. Foram avaliados os resultados de 250 exames de urina rotina e RPCU. Observou-se correlação da RPCU com as variáveis proteína (pela tira reagente), com a presença de cilindros totais, de cilindros granulosos, bactérias, pH, cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio. Além disso, houve correlação marginalmente significativa com cristais de xantina e leucócitos. Não foi observada correlação da RPCU com a variável idade, nem com a variável células totais do sedimento. E ainda, a variável hemácia não apresentou correlação significativa com a RPCU.

Palavras-chave: hemácias; proteinúria; bacteriúria; cilindros; cristais urinários.

Abstract

The evaluation of proteinuria is of paramount importance in veterinary routine. However, its interpretation should always be followed by the evaluation of urinalysis. Few controlled studies evaluated the actual impact of urinary tract inflammation and hemorrhage on proteinuria in dogs, and they do not fully agree with one another. In addition, no studies correlate the presence of cells and casts to proteinuria in dogs. Therefore, the objective of this study was to evaluate, in a retrospective study, the changes of sediment examination in routine urine tests performed in dogs and correlate them with their UPC ratio values. The results of 250 routine urine tests and the UPC ratio were evaluated. A correlation was observed between the UPC ratio and the variables protein per reagent strip, total casts, granular casts, bacteria, pH, urate crystals and calcium carbonate crystals. In addition, a marginally significant correlation was observed with xanthine crystals and leukocytes. There was no correlation between the UPC ratio and the age variable per se. The red blood cell variable did not have a significant correlation with the UPC ratio. There was also no correlation between the UPC ratio and the total cell variable.

Keywords: bacteriúria; casts; crystals; proteinúria; red blood cells; urinary sediment.

6.1.Introdução

A interpretação da proteinúria deve ser acompanhada da avaliação da urinálise. Existem poucos estudos controlados que avaliam o impacto da inflamação e hemorragia do trato urinário como causadoras da proteinúria em cães (Vaden et al., 2004).

Os resultados da influência da contaminação da urina com sangue são controversos. Já foi reportado que uma pequena contaminação sanguínea de uma amostra de urina poderia não ter influência ao se avaliar proteinúria de alta magnitude (Bagley et al., 1991). O mesmo pôde ser concluído em outro estudo (Vaden et al., 2004) em que se demonstrou que a contaminação com baixa quantidade de sangue não alterou o valor da RPCU em cães, inclusive em amostras descritas como vermelho-claro ou róseas.

Um estudo demonstrou que uma contaminação de sangue de $\geq 0,125\%$ pode aumentar a RPCU, mas se a urina permanecer amarela (hematúria microscópica), é improvável que valores de RPCU $> 0,5$ ocorra pela hematúria. No entanto, a contaminação por sangue que resulta na coloração vermelha da amostra de urina (hematúria macroscópica) pode aumentar a RPCU acima do intervalo normal (Jillings et al., 2019). Já Vientós-Plotts e colaboradores (2018) concluíram que a contaminação microscópica com sangue pode afetar a RPCU.

Em 2004, um estudo demonstrou que a grande maioria das amostras piúricas não foram albuminúricas e mantiveram valores normais de RPCU sugerindo que pode haver outras fontes de inflamação do trato urinário que seriam mais provavelmente associadas à proteinúria (Vaden et al., 2004). Também já foi descrito que não foi possível associar alterações nos valores de RPCU à presença de bacteriúria (Meindl et al., 2019), porém ainda não se sabe se determinadas espécies de bactérias podem incitar uma resposta inflamatória mais intensa gerando, neste caso, a ocorrência de proteinúria pós renal. O mesmo estudo demonstrou que um quinto (21,5%) das amostras de urina com sedimento ativo apresentaram valores normais de RPCU. O mesmo pôde ser observado em um estudo retrospectivo realizado com 1049 amostras de urina de cães, em que não foi possível demonstrar correlação entre a bacteriúria com alterações nos valores da RPCU (Strachan et al., 2022). Em outro estudo, observou-se que não houve diferença na RPCU na urina de cães com sedimento ativo, comparado com a RPCU de cães com sedimento inativo (Rossi et al., 2012).

Há poucos estudos controlados que correlacionam as alterações na sedimentoscopia urinária com a proteinúria nos cães e não há concordância total entre eles. Também não há na literatura atual estudos que correlacionem a presença de células e cilindros à proteinúria em cães, o que justifica mais estudos na área.

6.2. Materiais e métodos

Foi realizado estudo retrospectivo utilizando-se os prontuários de atendimentos no Hospital Veterinário da UFMG.

Para seleção dos prontuários, foi gerado um relatório por meio do sistema de atendimento do hospital em que foram incluídos todos os registros de atendimentos de cães nos quais foram realizados exame de urina rotina e RPCU, no período de janeiro de 2020 a junho de 2021.

Foram analisados e registrados a raça, sexo, idade, diagnóstico ou suspeita clínica e resultado da RPCU, bem como da sedimentoscopia sendo considerados os valores de hemácias, leucócitos, bactérias, células, cristais e cilindros.

O resultado da quantidade de hemácias é expresso em células por campo. Quando o resultado não era fornecido em apenas um valor absoluto, foi realizado a média aritmética entre eles, de forma que 1 a 2 hemácias por campo teve como valor final 1,5. O mesmo procedimento foi realizado com o parâmetro leucócitos.

O resultado de bactérias é dado em número de cruces, de forma que uma cruz (+) foi transformado em 1, duas cruces (++) em 2, três cruces (+++) em 3 e quatro cruces (++++) em 4. Em alguns casos, houve diferenciação entre número de cocos e bastonetes sendo então somados os dois resultados, sem distinção entre eles. Nos exames com resultado “traços”, optou-se por transformá-lo em 0,5.

As células foram avaliadas individualmente e pelo seu número total. Foram consideradas as quantidades de células renais, células da pelve, células escamosas, células transicionais e a soma de todas elas. O resultado é dado em células por campo e foi feita a média aritmética entre elas. Nos exames com resultado “raras”, optou-se por transformá-lo no número absoluto 0,5.

Os cristais foram avaliados individualmente e pelo seu número total. Foi computado o resultado de cristais de estruvita, oxalato de cálcio, bilirrubina, urato amorfo, fosfato amorfo, xantina, carbonato de cálcio e cristal amorfo e, nos casos em que o animal apresentava mais de um tipo de cristal, a soma deles. O resultado é dado em número de cruces que foram transformadas em valores absolutos. Nos exames com resultado “raros”, optou-se por transformá-lo em 0,5.

Os cilindros foram avaliados individualmente e pelo seu número total. Foi computado o resultado de cilindros granulosos, hialinos, céreos e leucocitários e, nos casos em que o

mesmo animal apresentava mais de um tipo, a soma deles. O resultado é dado em cilindros por campo, foi feita a média aritmética entre eles. Nos exames com resultado “raros”, optou-se por transformá-lo no número absoluto 0,5. Não foi registrado nenhum cilindro hemático.

6.3. Análise Estatística

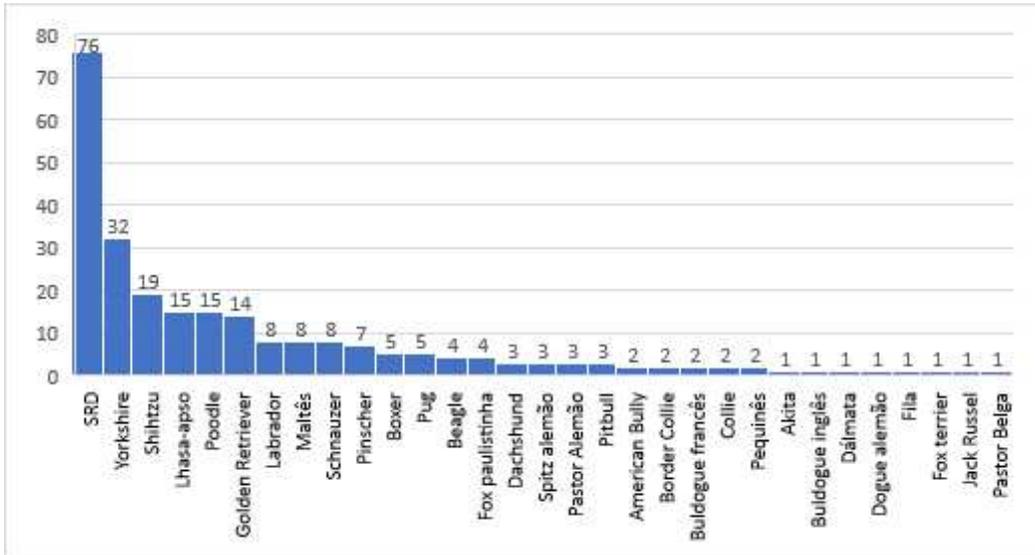
Foi produzida uma tabela de correlações par a par entre todos os 22 elementos ou grupos de elementos e os valores de RPCU e realizado Análise de Componentes Principais (análise multivariada). Esta análise multivariada avaliou todas as variáveis em conjunto, levando em consideração a correlação entre elas e teve por objetivo destacar os principais padrões de correlação entre as variáveis e como estas correlações se comportaram entre os diferentes grupos.

A tabela de dados foi preparada para a Análise de Componentes Principais (ACP). Alguns valores de idade estavam ausentes e foram preenchidos através do método de imputação de dados que preserva a matriz de variância e covariância (Multivariate Imputation by Chained Equations, Van Buuren, Groothuis-Oudshoorn, 2011). Nenhuma variável apresentou distribuição normal. A fim de reduzir o efeito dessas características na ACP, inicialmente foi somado um valor aleatório positivo insignificante (menor que 0,01) às medidas e em seguida foi aplicada a transformação logarítmica. Foi necessário somar esse valor aleatório positivo porque havia muitos valores iguais a zero. A ACP foi realizada com essa matriz transformada utilizando-se a matriz de correlação de Pearson.

6.4. Resultados

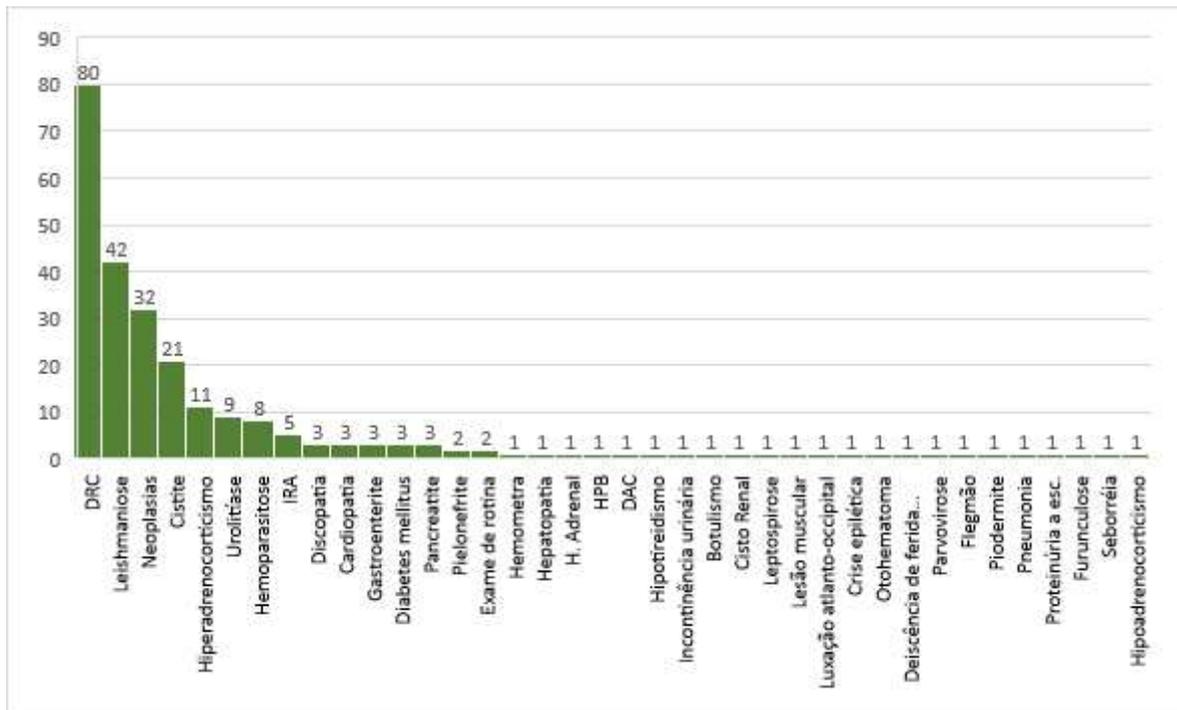
Foram avaliados os resultados de 250 exames de urina rotina e RPCU, sendo 126 fêmeas e 124 machos. As raças mais frequentes foram SRD, yorkshire, shihtzu, lhasa apso, poodle e golden retriever, conforme demonstrado no gráfico 3. As comorbidades mais frequentes foram, em ordem decrescente, DRC, leishmaniose, pacientes oncológicos, cistite e hiperadrenocorticismos, conforme demonstrado no gráfico 4.

Gráfico 3 - Frequência por raça da população canina



SRD = sem raça definida

Gráfico 4 - Frequência quanto à comorbidades e suspeitas clínicas da população canina



DRC = doença renal crônica; IRA = injúria renal aguda; H. Adrenal = hiperplasia da adrenal; HPB = hiperplasia prostática benigna; DAC = dermatite atópica canina; esc = esclarecer

Os animais foram separados em 8 grupos de acordo com suas comorbidades e/ou suspeitas clínicas. Os grupos estão demonstrados na tabela 5. O grupo 8 englobou comorbidades que não puderam ser agrupadas nos demais grupos.

Tabela 5 – Grupos de animais de acordo com sua comorbidade/suspeita clínica

GRUPOS	COMORBIDADE/ SUSPEITA CLÍNICA	QUANTIDADE
GRUPO 1	Doença Renal Crônica	80
	Leishmaniose	42
	Injúria Renal Aguda	5
GRUPO 2	Pacientes oncológicos	32
GRUPO 3	Cistite	21
GRUPO 4	Hiperadrenocorticismo	11
GRUPO 5	Urolitíase	9
GRUPO 6	Hemoparasitose	8
GRUPO 7	Exame de rotina	2
GRUPO 8	Outros	40

A análise estatística descritiva das variáveis, calculando os principais índices como média, mediana, desvio-padrão e coeficiente de variação de cada grupo está representada nas Tabela 6, Tabela 7 e Tabela 8.

Tabela 6 – Análise estatística descritiva de RPCU, hemácias, leucócitos e bactérias por grupos e geral

GRUPO	RPCU						HEMÁCIAS					
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coeficiente de variação	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coeficiente de variação
1	2,61	1,3	0,06	30,4	4,16	160%	4,73	0,5	0	170	18,40	389%
2	0,92	0,445	0,05	5,07	1,20	131%	14,92	0,5	0	225	41,44	278%
3	2,23	0,66	0,1	12,19	3,47	155%	18,12	2,5	0	250	53,97	298%
4	1,88	1,53	0,49	5,59	1,43	76%	0,36	0,5	0	0,5	0,23	64%
5	1,13	0,66	0,11	3,01	1,02	90%	150,72	3,5	0,5	1100	361,37	240%
6	2,26	0,88	0,11	9,5	3,27	144%	9,31	0,75	0	70	24,52	263%
7	0,09	0,085	0,07	0,1	0,02	25%	2,50	2,5	0,5	4,5	2,83	113%
8	2,02	0,605	0,06	31,39	5,33	264%	10,65	0,5	0	330	52,21	490%
Geral	2,15	1,03	0,05	31,39	3,89	181%	13,3	0,5	0	1100	77,4	582%
GRUPO	LEUCÓCITOS						BACTÉRIAS					

	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coefficiente de variação	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coefficiente de variação
1	3,96	0,5	0	135	14,80	374%	0,84	0,5	0	4	0,81	97%
2	8,98	0,5	0	95	23,58	262%	1,14	0,5	0	4	1,20	105%
3	27,86	17,5	0,5	165	38,05	137%	2,12	2	0	4	1,17	55%
4	0,64	0,5	0	1,5	0,45	71%	0,50	0,5	0	2	0,59	118%
5	29,56	2	0,5	230	75,42	255%	1,28	1	0	3	1,12	88%
6	2,00	0,5	0	13,5	4,65	233%	0,50	0,5	0	1	0,38	76%
7	0,50	0,5	0,5	0,5	0,00	0%	0,75	0,75	0,5	1	0,35	47%
8	1,78	0,5	0	22,5	4,97	280%	0,86	0,5	0	3	0,91	105%
Geral	6,94	0,5	0	230	23,48	338%	0,98	0,5	0	4	0,98	100%

Tabela 7 – Análise estatística descritiva de células, cristais e cilindros por grupos e geral

GRUPO	CÉLULAS						CRISTAIS					
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coefficiente de variação	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coefficiente de variação
1	1,01	0,5	0	6,5	1,52	151%	0,32	0	0	5	0,77	239%
2	1,00	0	0	8	2,04	204%	0,41	0	0	6	1,16	286%
3	1,69	0,5	0	15,5	3,56	210%	0,52	0	0	4	1,12	214%
4	0,36	0,5	0	1	0,39	108%	0,00	0	0	0	0,00	NA
5	1,94	1,5	0	7,5	2,23	115%	0,39	0	0	2,5	0,86	221%
6	1,19	1	0	2,5	0,96	81%	0,69	0	0	4	1,39	202%
7	0,25	0,25	0	0,5	0,35	141%	1,00	1	0	2	1,41	141%
8	0,83	0,5	0	3	0,90	109%	0,39	0	0	5	1,09	283%
Geral	1,04	0,5	0	15,5	1,77	170%	0,37	0	0	6	0,93	253%

Tabela 8 – Análise estatística descritiva de cilindros por grupos e geral

GRUPO	CILINDROS					
	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio-padrão	Coefficiente de variação
1	0,24	0	0	8	0,80	328%
2	0,20	0	0	5,5	0,97	480%
3	0,05	0	0	0,5	0,15	316%
4	0,18	0	0	1,5	0,46	254%
5	0,11	0	0	1	0,33	300%
6	0,38	0	0	2	0,69	185%
7	0,00	0	0	0	0,00	NA
8	0,24	0	0	2,5	0,63	265%
Geral	0,22	0	0	8	0,73	339%

Na tabela 9 está demonstrada as correlações pares a pares entre os elementos avaliados e os valores de RPCU.

Tabela 9 – Correlação entre RPCU e os elementos avaliados

VARIÁVEL 1	VARIÁVEL 2	CORRELAÇÃO	VALOR-P
RPCU	Proteína pela tira reagente	0,52	<0,001
RPCU	Total de cilindros	0,21	0,001
RPCU	Cilindros granulados	0,20	0,001
RPCU	Bactérias	0,15	0,019
RPCU	pH	-0,15	0,022
RPCU	Cristais de urato	-0,14	0,023
RPCU	Cristais de carbonato de cálcio	0,13	0,039
RPCU	Cristais de xantina	-0,12	0,056
RPCU	Leucócitos	0,12	0,057
RPCU	Cilindros hialinos	0,11	0,097
RPCU	Hemácias	0,10	0,117
RPCU	Cristais de fosfato amorfo	-0,09	0,180
RPCU	Total de cristais	-0,08	0,191
RPCU	Cilindros cerosos	0,08	0,212
RPCU	Cristais de oxalato de cálcio	0,05	0,428

RPCU	Cristais de estruvita	-0,04	0,543
RPCU	Cilindro leucocitário	-0,03	0,590
RPCU	Células da pelve	0,03	0,593
RPCU	Células transicionais	-0,02	0,795
RPCU	Células escamosas	-0,01	0,815
RPCU	Cristais de bilirrubina	0,01	0,892
RPCU	Idade	0,01	0,918
RPCU	Cristal amorfo	0,00	0,949
RPCU	Células renais	0,00	0,952
RPCU	Total de células	0,00	0,994

Observou-se correlação entre RPCU e as variáveis proteína pela tira reagente, totais de cilindros, cilindros granulosos, bactérias, pH, cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio. Ainda, pôde-se observar correlação marginalmente positiva com as variáveis cristais de xantina e leucócitos.

Não foi observada correlação entre RPCU e as demais variáveis, salientando-se as variáveis hemácias, idade e total de células.

As figuras 4 a 9 ilustram as correlações entre RPCU e as variáveis proteína pela tira reagente, bactérias, total de cilindros, leucócitos, hemácias e idade.

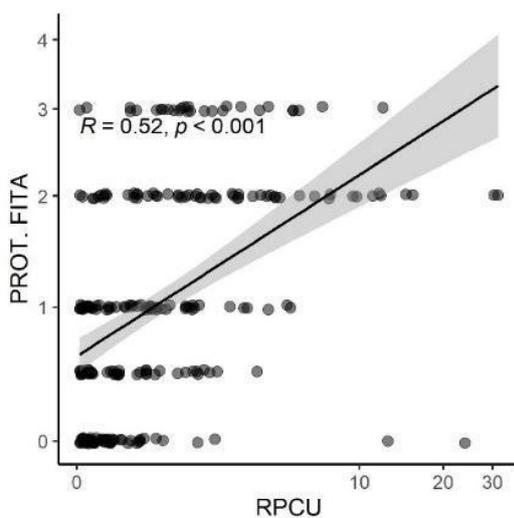


Figura 4 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e Proteína pela tira reagente (PROT. FITA)

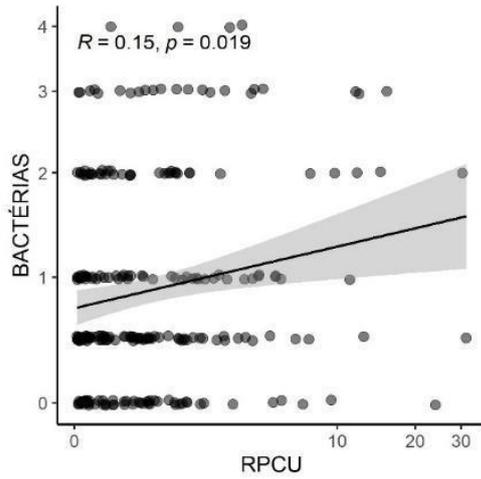


Figura 5 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e bactérias

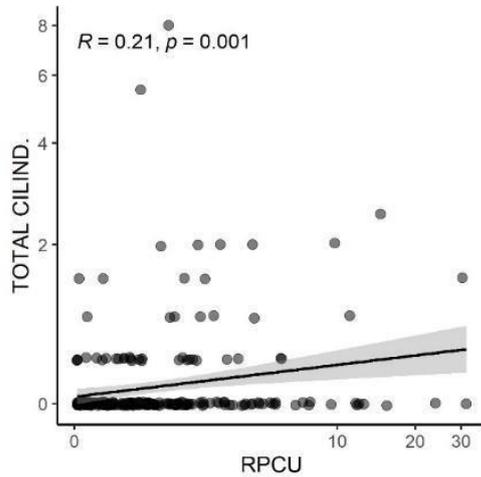


Figura 6 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e total de cilindros (TOTAL CILIND.)

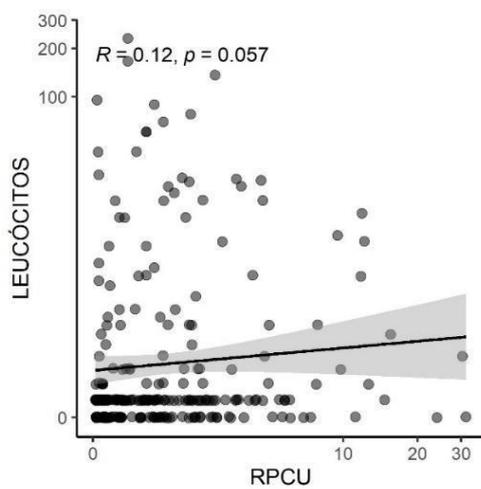


Figura 7 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e leucócitos

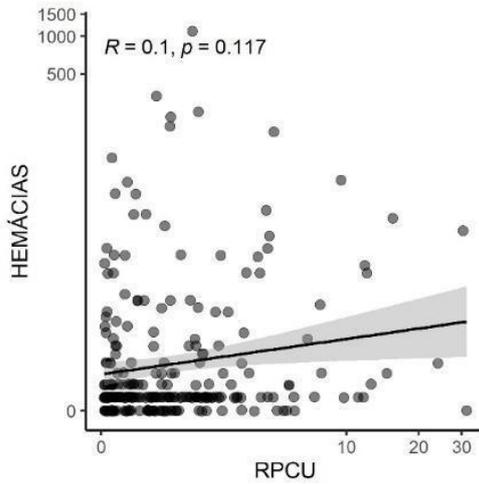


Figura 8 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e hemácias

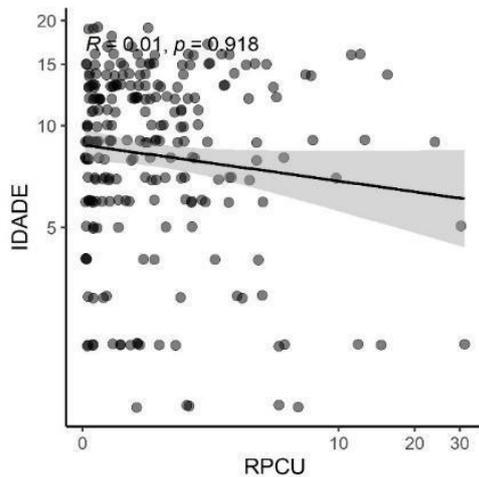
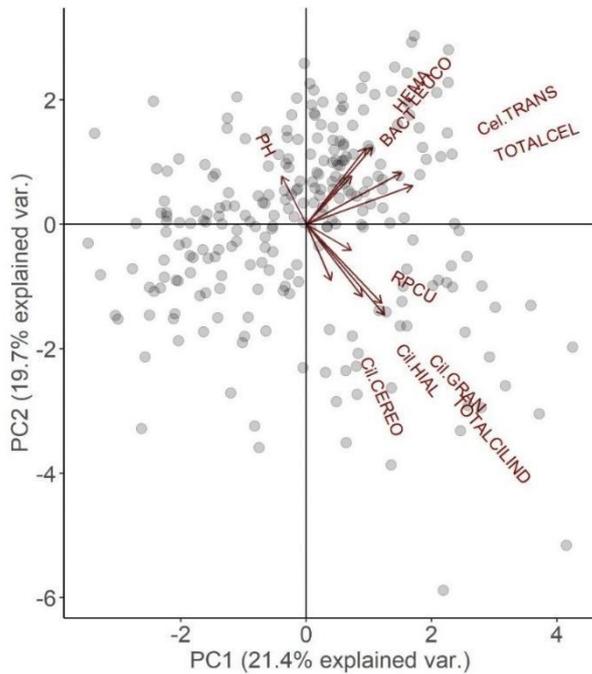


Figura 9 – Gráfico de dispersão da correlação entre as variáveis RPCU e idade

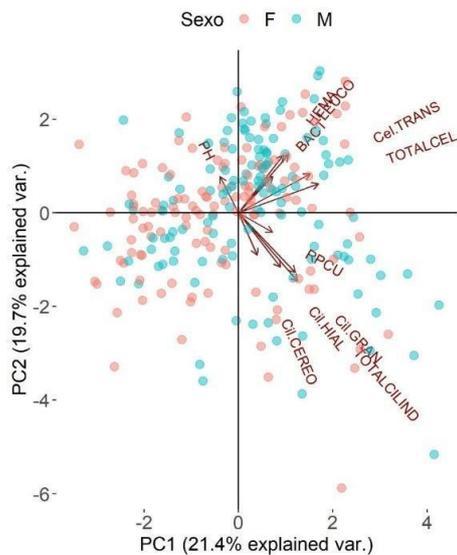
Os dois primeiros componentes (proteína pela tira reagente e total de cilindros) explicaram apenas 20,7% da variabilidade total da matriz de dados. Analisando o gráfico 5, pode-se notar muitas variáveis pequenas, indicando baixa importância para o resultado. Também se observa muitas variáveis sobrepostas, indicando que muitas estão correlacionadas entre si. Para que seja possível realizar a análise de forma produtiva, retirou-se as variáveis com menor importância para então realizar uma segunda ACP com um conjunto menor de variáveis.

Gráfico 6 – ACP atualizada entre as variáveis do trabalho



No gráfico 7 os animais foram separados por sexo. Não é possível observar uma separação clara entre os sexos e isso indica que o sexo não teve grande importância em determinar esse padrão.

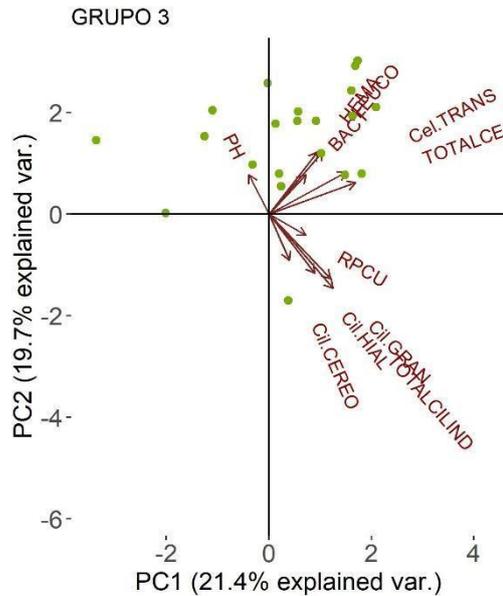
Gráfico 7 – Correlação entre sexo e as variáveis do trabalho



Avaliando os grupos de cães separadamente, a maioria dos pontos do Grupo 3 (Cistite) se localizam no quadrante superior direito, com maiores valores das variáveis hemácias,

leucócitos, bactérias, células transicionais e total de células (gráfico 8). Os demais grupos possuem poucos pontos para permitir uma interpretação mais robusta, ou os pontos estão distribuídos por todos os quadrantes, indicando que os animais desses grupos são bastante heterogêneos entre si.

Gráfico 8 – Avaliação do Grupo 3 (Cistite) com as variáveis do trabalho (Capítulo 2)



6.5. Discussão

A avaliação da proteinúria é de suma importância na rotina da clínica médica veterinária e deve ser sempre acompanhada da avaliação da urinálise. Existem poucos estudos controlados que avaliam qual seria o real impacto da inflamação e hemorragia do trato urinário na RPCU e inexistem trabalhos sobre qual seria o impacto de outros elementos, como cilindros, células e cristais na proteinúria. Além do mais, os resultados para a influência da contaminação com sangue na urina são controversos.

Por vezes, a inflamação e hemorragia do trato urinário são consideradas como as causadoras da proteinúria em alguns exames de urina em cães, baseando-se apenas na experiência clínica (Vaden et al., 2004). Tal atitude pode representar um risco a esse animal, ao se descartar de forma imponderada causas renais para resultados positivos de proteinúria em exames de urina com sedimento ativo.

Estudos demonstraram que amostras de urina com sedimento ativo apresentaram valores

normais de RPCU (Meindl et al., 2019) e que não houve diferença na RPCU na urina de cães com sedimento ativo, comparado com a RPCU de cães com sedimento inativo (Rossi et al., 2012).

No presente trabalho, foi possível observar correlação com a RPCU para as variáveis proteína pela tira reagente, total de cilindros, cilindros granulosos, bactérias, pH, cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio. Ainda, correlação marginalmente significativa foi observada com cristais de xantina e leucócitos.

Não foi observada correlação da RPCU com a variável idade por si só, o que contradiz estudo anterior (Whittemore et al., 2006) que concluiu que a idade tem influência na proteinúria.

A correlação da RPCU com a proteína pela tira reagente era esperada. Observou-se correlação da RPCU com a variável total de cilindros, cilindros granulosos, cilindros hialinos e cilindros céreos. O aumento do número de cilindros de urina, ou cilindrúria, indica algum processo patológico nos rins (Rizzi, 2014). Além disso, a presença de cilindros é importante para classificação da lesão renal aguda (Crivellenti e Giovaninni, 2021). Logo, os valores alterados de RPCU em cães com cilindrúria têm, provavelmente, como origem, uma afecção renal que leve à proteinúria renal patológica e consequente formação dos cilindros e não os cilindros em si.

Foi observada correlação da RPCU com a presença de bactérias, o que contradiz resultados de estudo anterior (Meindl et al., 2019). Ainda não se sabe se determinadas espécies de bactérias podem incitar uma resposta inflamatória mais intensa que outras (Meindl et al., 2019).

A correlação marginalmente significativa da RPCU com leucócitos encontrada nesse estudo também difere do resultado encontrado por Vaden e colaboradores (2004). Os autores sugeriram que pode haver outras fontes de inflamação do trato urinário que seriam mais provavelmente associadas à proteinúria.

A variável hemácia não obteve correlação significativa com a RPCU, coincidindo com estudos realizados anteriormente (Bagley et al., 1991; Vaden et al., 2004) e diferindo do trabalho realizado por Vientós-Plotts e colaboradores (2018), que concluiu que a contaminação microscópica com sangue pode afetar a RPCU. Ainda não há conformidade entre os estudos, visto que um trabalho demonstrou que se a urina permanecer amarela (hematúria microscópica), seria improvável que valores de $RPCU > 0,5$ se devessem à hematúria (Jillings et al., 2019).

Apesar de se ter observado correlação entre a RPCU e os cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio, o mesmo não pôde ser visto com os demais cristais e nem com o número total de cristais. Amostras hipersaturadas de urina predisõem a formação de cristais, assim

como as baixas temperaturas de refrigeração (Crivellenti e Giovaninni, 2021). Não foram encontrados trabalhos que demonstrem essa correlação. Também não foi vista correlação da RPCU com a variável total de células.

Analisando o gráfico de ACP (gráfico 8) observou-se que as variáveis hemácias, bactérias, leucócitos, células transicionais e total de células mostraram tendência a correlação positiva com o grupo 3, correspondente aos animais com cistite, sendo este resultado esperado devido à ocorrência de bactérias nestes casos, além de inflamação da mucosa da vesícula urinária ocasionando maior presença de células inflamatórias, descamação do epitélio e possíveis sangramentos.

Ainda, as variáveis RPCU, cilindros granulosos, cilindros hialinos, cilindros céreos e total de cilindros também tenderam a ter uma correlação positiva entre si, e a relação entre a presença de cilindros e a proteinúria foi discutida anteriormente.

As variáveis hemácias, bactérias, leucócitos, células transicionais e total de células tenderam a apresentar baixa correlação com a variável RPCU.

Além disso, no gráfico 7 foi possível observar que não houve separação clara entre os sexos, concluindo-se então que o gênero não teve grande importância em determinar o padrão em nenhuma das variáveis avaliadas, incluindo a RPCU.

6.6. Conclusões

Foram observadas correlações significativas da variável RPCU com as variáveis proteína pela tira reagente, total de cilindros, cilindros granulosos, bactérias, pH, cristais de urato e cristais de carbonato de cálcio. Ainda, correlação marginalmente significativa foi observada com cristais de xantina e leucócitos.

Não foi observada correlação da RPCU com a variável idade. A variável hemácia não obteve correlação significativa com a RPCU. Também não foi vista correlação da RPCU com a variável total de células.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACIC, A.; KOGIKA, M. M.; BARBARO, K. C. et al. Evaluation of albuminuria and its relationship with blood pressure in dogs with chronic kidney disease. *Veterinary Clinical Pathology*, v.39, n.2, p.203–209, 2010.

BAGLEY, R. S.; CENTER, S. A., LEWIS, R. M. et al. The Effect of Experimental Cystitis and Iatrogenic Blood Contamination on the Urine Protein/Creatinine Ratio in the Dog. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.5, n.2, p.66–70, 1991.

BATAMUZI, E. K.; KRISTENSEN, F. e JENSEN, A. L. Composition of protein in urine from dogs with pyoderma. *Veterinary Record*, v.143, n.1, p.16–20, 1998.

BROWN, S. A. Microalbuminuria: When to Test. *Clinician's Brief*. Fevereiro 2009. Disponível em: <<https://www.cliniciansbrief.com/column/category/column/capsules/microalbuminuria-when-test>> Acesso em: 10 out, 2021.

CARTER, J. L.; TOMSON, C. R. V.; STEVENS, P. E. et al. Does urinary tract infection cause proteinuria or microalbuminuria? A systematic review. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v.21, n.11, p.3031–3037, 2006.

CORTADELLAS, O.; FERNÁNDEZ DEL PALACIO, M. J.; TALAVERA, J. et al. Glomerular filtration rate in dogs with leishmaniasis and chronic kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.22, n.2, p.293–300, 2008.

CRIVELLENTI, L. Z. e GIOVANINNI, L. H. Tratado de nefrologia e urologia em cães e gatos: Urinálise. 1 ed. São Paulo: Medvet, 2021.

ERKAN, E. Proteinuria and progression of glomerular diseases. *Pediatric Nephrology*, v.28, n.7, p.1049–1058, 2013.

GARNER, B. C. e WIEDMEYER, C. E. Comparison of a semiquantitative point-of-care assay for the detection of canine microalbuminuria with routine semiquantitative methods for proteinuria. *Veterinary Clinical Pathology*, v.36, n.3, p.240–244, 2007.

GENTILINI, F.; DONDI, F.; MASTRORILLI, C. et al. Validation of a human immunoturbidimetric assay to measure canine albumin in urine and cerebrospinal fluid. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.17, n.2, p.179–183, 2005.

GILBERT, R. E.; AKDENIZ, A. e JERUMS, G. Semi-quantitative determination of microalbuminuria by urinary dipstick. *Aust NZ J Med*, v.22, n.4 p.334-337, 1992.

GRAUER, G. F.; THOMAS, C. B.; EICKER, S. W. Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from a random, voided sample. *American Journal of Veterinary Research*, v.46, p.2116–2119, 1985.

GRAUER, G. F., OBERHAUSER, E. B. e BASARABA, R. J. Development of microalbuminuria in dogs with heartworm disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine* v.16, p.352, 2002.

GRAUER, G. F. Canine glomerulonephritis: new thoughts on proteinuria and treatment. *Journal of Small Animal Practice*, v.46, p.469–478, 2005.

GRAUER, G. F. Proteinuria: Measurement and Interpretation. *Topics in Companion Animal Medicine*, v.26, n.3, p.121–127, 2011.

GRIMES, M.; HESELTINE, J. C.; NABITY, M. B. et al. Characteristics associated with bacterial growth in urine in 451 proteinuric dogs (2008-2018). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.34, n.2, p.770–776, 2020.

JANG, H. M.; BAEK, H. S.; KIM, J. E. et al. Renal involvement in children and adolescents with inflammatory bowel disease. *Korean Journal of Pediatrics*, v.61, n.10, p.327–331, 2018.

HARLEY, L. e LANGSTON, C. Proteinuria in dogs and cats. *Canadian Veterinary Journal*, v.53, n.6, p.631–638, 2012.

HARVEY, C. The Relationship Between Periodontal Infection and Systemic and Distant Organ Disease in Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* v.52, n.1, p.121-137, 2022.

IOANNIS, O. L.; NECTARIOS, S.; JOSE JOAQUIN, C. et al. The prognostic value of microalbuminuria in puppies with canine parvoviral enteritis. *Acta Veterinaria*, v.69, n.1, p.116–122, 2019.

JACOB, F.; POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A. et al. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *J Am Vet Med Assoc.* v.226, n.3, p.393-400, 2005.

JILLINGS, E. K. P.; SQUIRES, R. A.; AZARPEYKAN, S. et al. Does blood contamination of urine compromise interpretation of the urine protein to creatinine ratio in dogs? *New Zealand Veterinary Journal*, v.67, n.2, p. 74–78, 2019.

KIM, Y. S.; LEE, D. H.; KIM, H. Y. et al. Increased urinary albumin/creatinine ratio is associated with atopic dermatitis in Korean males: The 2011-2013 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v.73, n.5, p.874–876, 2015.

LEES, G. E.; JENSEN, W. A.; SIMPSON, D. F. et al. Persistent albuminuria precedes onset of overt proteinuria in male dogs with X-linked hereditary nephropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.16, p.353, 2002.

LEES, G. E.; BROWN, S. A.; ELLIOTT, J. et al. Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (Small Animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.19, n.3, p.377–385, 2005.

MCCANN, T. M.; RIDYARD, A. E.; ELSE, R. W. et al. Evaluation of disease activity markers in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Journal of Small Animal Practice*, v.48, n.11, p.620–625, 2007.

MCFADDEN, T. e MARRETTA, S. M. Consequences of untreated periodontal disease in dogs and cats. *Journal of Veterinary Dentistry*, v.30, n.4, p.266–275, 2013.

MEINDL, A. G.; LOURENÇO, B. N.; COLEMAN, A. E. et al. Relationships among urinary

protein-to-creatinine ratio, urine specific gravity, and bacteriuria in canine urine samples. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 33, n.1, p.192–199, 2019.

MEYER, T. W. Tubular injury in glomerular disease. *Kidney International*, v.63, n.2, p.774–787, 2003.

MIYAKAWA, H.; OGAWA, M.; SAKATANI, A. et al. Evaluation of the progression of non-azotemic proteinuric chronic kidney disease in dogs. *Research in Veterinary Science*, v.138, p.11–18, 2021.

MURGIER, P.; JAKINS, A.; BEXFIELD, N. et al. Comparison of semiquantitative test strips, urine protein electrophoresis, and an immunoturbidimetric assay for measuring microalbuminuria in dogs. *Veterinary Clinical Pathology*, v.38, n.4, p.485–492, 2009.

PEREIRA DOS SANTOS, J. D.; CUNHA, E.; NUNES, T. et al. Relation between periodontal disease and systemic diseases in dogs. *Research in Veterinary Science*, v.125, p.136–140, 2019.

PRESSLER, B. M.; VADEN, S. L. e JENSEN, W. A. Prevalence of microalbuminuria in dogs evaluated at a referral veterinary hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.15, p.300, 2001.

PRESSLER, B. M.; VADEN, S. L.; JENSEN, W. A. et al. Detection of canine microalbuminuria using semiquantitative test strips designed for use with human urine. *Veterinary Clinical Pathology*, v.31, n.2, p.56–60, 2002.

PRESSLER, B. M.; PROULX, D. A. e WILLIAMS, L. E. Urine albumin concentration is increased in dogs with lymphoma or osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* v.17, p.404, 2003.

PRESSLER, B. M. Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, v.43, n.6, p.1193–1208, 2013.

RADECKI, S.; DONNELLY, R.; JENSEN, W. A. et al. Effect of age and breed on the prevalence of microalbuminuria in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.17, 2003.

RIZZI, T. E. Part 2 : Evaluation of Urine Chemistry & Sediment. *Today's Veterinary Practice*, Maio/Junho 2014. Disponível em: <<https://todaysveterinarypractice.com/wp-content/uploads/sites/4/2016/06/T1405C09.pdf>> Acesso em: 8 maio, 2022.

ROSSI, G.; GIORI, L.; CAMPAGNOLA, S. et al. Evaluation of factors that affect analytic variability of urine protein-to-creatinine ratio determination in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, v.73, n.6, p.779–788, 2012.

SINGH, A. e SATCHELL, S. C. Microalbuminuria: Causes and implications. *Pediatric Nephrology*, v.26, n.11, p.1957–1965, 2011.

STRACHAN, N. A.; HALES, E. N. e FISCHER, J. R. Prevalence of positive urine culture in the presence of inactive urine sediment in 1049 urine samples from dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.36, n.2, p.629–633, 2022.

VADEN, S. L.; PRESSLER, B. M.; LAPPIN, M. R. et al. Effects of urinary tract inflammation and sample blood contamination on urine albumin and total protein concentrations in canine urine samples. *Veterinary Clinical Pathology*, v.33, n.1, p.14–19, 2004.

VADEN, S. L.; TURMAN, C. A.; HARRIS, T. L. et al. The prevalence of albuminuria in dogs and cats in an ICU or recovering from anesthesia. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v.20, n.5, p.479–487, 2010.

VAN BUUREN, S.; GROOTHUIS-OUDSHOORN, K. MICE: Multivariate Imputation by Chained Equations in R. *Journal of Statistical Software*, v.45, n.3, p.1-67, 2011.

VIENTÓS-PLOTTS, A. I.; BEHREND, E. N.; WELLES, E. G. et al. Effect of blood contamination on results of dipstick evaluation and urine protein-to-urine creatinine ratio for urine samples from dogs and cats. *American Journal of Veterinary Research*, v.79, n.5, p.525–531, 2018.

WHITTEMORE, J. C.; GILL, V. L.; JENSEN, W. A. et al. Evaluation of the association between microalbuminuria and the urine albumin-creatinine ratio and systemic disease in dogs.

Journal of the American Veterinary Medical Association, v.229, n.6, p.958–963, 2006.

WHITTEMORE, J. C.; MARCUM, B. A.; MAWBY, D. I. et al. Associations among albuminuria, c-reactive protein concentrations, survival predictor index scores, and survival in 78 critically ill dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v.25, n.4, p.818–824, 2011.

WINOCOUR, P. H. Microalbuminuria. *B Med J*. v.304, p.1196-1197, 1992.

ANEXOS

Anexo I



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "Microalbuminúria em cães: Comparação de técnicas e correlação das alterações no sedimento urinário com a relação proteína-creatinina urinária em cães", protocolo do CEUA: 148/2021 sob a responsabilidade de Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 09/08/2021.

Vigência da Autorização	09/08/2021 a 08/08/2026
Finalidade	Pesquisa
*Espécie/linhagem	Cão / Indiferente
Nº de animais	73
Peso/Idade	10kg / 5(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Atendimento clínico do Hospital Veterinário
*Espécie/linhagem	Cão / Indiferente
Nº de animais	5
Peso/Idade	10kg / 5(anos)
Sexo	indiferente
Origem	Atendimento clínico do Hospital Veterinário

Considerações posteriores:

09/08/2021	Aprovado com Recomendação na reunião ordinária on-line do dia 09/08/2021. Validade: 09/08/2021 à 08/08/2026. RECOMENDAÇÃO: Conforme apresentado no cálculo do tamanho amostral, para se obter a estimativa da sensibilidade com margem de erro de 10% serão necessários 73 animais. Porém, uma vez que o parâmetro RPCU > 0,5 definirá os animais com microalbuminúria que participarão desse grupo, espera-se que o número total de animais avaliados será maior que 73, de acordo com a frequência esperada para essa alteração na população estudada. De forma semelhante, o número de animais necessários para o grupo com RPCU < 0,5 depende da proporção de animais com o parâmetro maior e menor que 0,5. O número total de animais solicitados deve levar em consideração todos os animais avaliados, mesmo os que não entrarem nos grupos experimentais. Portanto, a CEUA recomenda que, ao término do projeto, os pesquisadores apresentem um relatório com o número de animais efetivamente avaliados.
------------	---

Anexo II

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Microalbuminúria em cães: comparação de técnicas e correlação das alterações no sedimento urinário com a relação proteína-creatinina urinária em cães

Nome do pesquisador responsável: Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho

Razão social e CiaeP instituição da CEUA que aprovou: Universidade Federal de Minas Gerais – CiaeP: 02.044.2019

Objetivos do estudo: Avaliar a microalbuminúria em cães pelos métodos de eletroforese de proteínas urinárias, imunoturbidimetria e por tiras reagentes semi-quantitativas. Determinar se as tiras reagentes semi-quantitativas são adequadas para avaliação de triagem da microalbuminúria em cães. Avaliar quais e em qual grau de alterações no sedimento urinário podem levar a alterações nos valores da relação proteína-creatinina urinária.

Procedimentos a serem realizados com os animais: Será realizado o exame clínico dos cães e coleta de urina por meio de sondagem uretral ou cistocentese guiada por ultrassom.

Potenciais riscos para os animais: Os riscos para os animais com o exame físico e coleta de urina são mínimos, uma vez que são procedimentos simples e serão realizados por profissionais treinados. Os riscos da sondagem uretral são infecção do trato urinário de origem iatrogênica (risco minimizado através da correta higienização) e traumas no epitélio uretral. Os riscos da cistocentese são hematomas no local da punção, ruptura vesical e punção errônea de outro órgão da cavidade abdominal (riscos minimizados pela correta contenção do animal e da realização da punção guiada pela ultrassom).

Cronograma:

ATIVIDADES	2º/2020	1º/2021	2º/2021	1º/2022
Redação do projeto	x	x		
Compra de material		x		
Realização do experimento			x	
Análise dos dados			x	
Redação da dissertação			x	
Defesa da dissertação				x
Envio de artigo para publicação				x

Benefícios: A pesquisa contribuirá para maior esclarecimento sobre as diversas técnicas empregadas para avaliação da microalbuminúria em cães e suas aplicabilidades na prática clínica. Sua autorização para a inclusão do (s) seu (s) animal (is) nesse estudo é voluntária. Seu (s) animal (is) poderá (ão) ser retirado (s) do estudo, a qualquer momento, sem que isso cause qualquer prejuízo a ele (s). A confidencialidade dos seus dados pessoais será preservada. Os membros da CEUA ou as autoridades regulatórias poderão solicitar suas informações, e nesse caso, elas serão dirigidas especificamente para fins de inspeções regulares. A Médica Veterinária responsável pelo (s) seu (s) animal (is) será a Dra. Adriane Pimenta da Costa-Val Bicalho, inscrita no CRMV sob o nº 4331. Além dela, sua equipe também se responsabilizará pelo bem-estar do (s) seu (s) animal (is) durante

tudo o estudo e ao final dele. Quando for necessário, durante ou após o período do estudo, você poderá entrar em contato pelos contatos:

Adriane Pimenta da Costa Val Bicalho

Endereço: Escola de Veterinária da UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha
CEP: 31270-901/ São Luiz, Belo Horizonte – MG.
Telefone: (31) 3409-2000
E-mail: adriane@ufmg.br

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Mariane Martins Wagatsuma

Endereço: Escola de Veterinária da UFMG – Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha
CEP: 31270-901/ São Luiz, Belo Horizonte – MG.
Telefone: (31) 3409-200
E-mail: marianemw7@gmail.com

Assinatura do pesquisador (mestranda)

Data

Declaração de consentimento

Fui devidamente esclarecido (a) sobre todos os procedimentos deste estudo, seus riscos e benefícios ao (s) animal (is) pelo (s) qual (is) sou responsável. Fui também informado posso retirar meu (s) animal (is) do estudo a qualquer momento. Ao assinar este Termo de Consentimento, declaro que autorizo a participação do (s) meu (s) animal (is) identificado (s), a seguir, neste projeto. Este documento será assinado em duas vias, sendo que uma via ficará comigo e outra com o pesquisador.

_____, ____/____/____
(cidade) (data)

Nome completo: _____

Assinatura do Responsável: _____

Documento de Identidade: _____

Identificação do (s) animal (is):

Nome: _____

Número de identificação: _____

Espécie: _____

Raça: _____