

PESQUISA QUALITATIVA E QUANTITATIVA DE AGENTES BACTERIOLÓGICOS CAUSADORES DE CISTITE EM CÃES E DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE À ANTIMICROBIANOS.

Kátia Riccardi, Fernando Antonio de Ávila – Ciências Biológicas – Medicina Veterinária – Departamento de Patologia Animal – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Campus de Jaboticabal.

As infecções do trato urinário (ITU) atingem 14% da população mundial de cães, que podem localizar-se nos rins, bexiga urinária, próstata ou mais de um órgão (Barsanti & Johnson, 1990). O trato urinário superior, a bexiga vesical e a uretra proximal são estéreis, havendo colonização bacteriana somente na porção distal da uretra e genitália externa. A microflora normal presente na uretra distal, na vagina e no prepúcio dos cães se constitui basicamente de bactérias Gram-positivas, porém algumas negativas também podem colonizar. Nas fêmeas encontra-se a mesma flora (Barsanti & Johnson, 1995). Segundo Ling & Ruby (1978), o *Staphylococcus aureus* e o *Mycoplasma* spp. são as bactérias mais isoladas no prepúcio de cães saudáveis, e o *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus canis* nas vaginas de cadelas. A *E. coli* também é freqüentemente isoladas da vagina de cadelas saudáveis (Hirsh & Wiger, 1977).

As ITUs geralmente são causadas por bactérias constituintes da microflora intestinal ou porção distal do trato urinário inferior. A contaminação ocorre freqüentemente por migração de bactérias pela uretra (via ascendente). A infecção por via hematogena pode acontecer, porém é mais rara, ocorrendo principalmente em casos de pielonefrite (Barsanti & Johnson, 1995). Geralmente apenas uma espécie de bactéria está envolvida nos casos de ITU não complicada, em apenas 18% dos casos duas espécies podem estar envolvidas (Ling, 1984). Nas infecções complicadas mais de uma espécie pode estar envolvida, devido às falhas dos mecanismos de defesa do hospedeiro. As bactérias Gram-negativas são as principais responsáveis pelos casos de cistite, sendo a *E. coli* a mais comum, enquanto as positivas representam apenas 25% das infecções (Barsanti & Johnson, 1990).

Os cães apresentam diversos mecanismos de defesa contra infecções do trato urinário, entre elas a microflora natural da porção distal da uretra, freqüência de micção, mecanismos de defesa anatômicos, mucosa vesical, propriedades antimicrobianas da urina e imunidade local e sistêmica. Embora a urina possa suportar crescimento bacteriano em alguns casos, geralmente ela inibe a proliferação através de diversos fatores, entre eles a alta osmolalidade urinária, alta concentração de uréia, a mucoproteína de Tamm-Horsfall e ácidos orgânicos fracos provenientes da dieta (Osborne & Lees, 1995). A hiperosmolalidade urinária impede a proliferação de diversas espécies de bactérias, principalmente de alguns sorotipos de *E. coli*, (Barsanti & Johnson, 1990). Quando temos falhas em algum destes mecanismos, aumentam-se as chances de uma infecção. Doenças sistêmicas, como hiperadrenocorticismos e diabetes mellitus, predis põem aos quadros infecciosos (McGuire *et al.*, 2002), assim como o uso crônico de glicocorticóides (Ihrke *et al.*, 1985). O cateterismo vesical também está implicado como causa de cistites, principalmente em fêmeas (Biertuempfel *et al.*, 1981; Barsanti *et al.*, 1985; Lippert *et al.*, 1988). Compressão de medular, quando associada a paresia dos membros pélvicos e prolongada retenção urinária, também pode ocasionar cistite, principalmente se a retenção for superior a 72 horas (Barcellos *et al.*, 2004). As infecções podem ser classificadas como não complicadas e complicadas. No primeiro caso, enquadram-se as cistites bacterianas nas quais nenhuma falha nos mecanismos de defesa do hospedeiro for encontrada, geralmente respondem bem somente a antibioticoterapia. Os casos de ITUs complicadas, as falhas nos mecanismos de defesa são evidentes, geralmente urolitíases, neoplasias vesicais, divertículos ou retenção urinária são identificados. Estas falhas devem ser corrigidas para o tratamento ser efetivo (Shaw, 1990).

Os sinais clínicos são variáveis, dependendo da localização da infecção, entre outros fatores. Quando localizada no trato urinário inferior, o cão pode apresentar disúria, polaciúria, incontinência urinária e hematúria, sem comprometimento sistêmico (Osborne & Lees, 1995). As infecções do trato urinário inferior apresentam melhor prognóstico, porém se não tratadas adequadamente, podem ascender para o trato urinário superior complicando os quadros (Lulich & Osborne, 1997). A descoberta da exata localização da infecção é muito importante para estabelecer prognóstico e terapêutica, porém nem sempre este procedimento é simples (Rubin, 1990). Exames complementares,

como urinálise, hemograma, perfil bioquímico, radiografias e ultrassonografia auxiliam no diagnóstico mas podem não ser confirmatório.

A urocultura é o procedimento mais confiável para o diagnóstico de ITU. Uma cultura bacteriana positiva em amostra de urina coletada por cistocentese antepúbica é confirmatória. O método quantitativo é empregado para diferenciar um quadro infeccioso de uma contaminação da amostra, quando a urina é coletada por cateterização transuretral ou micção espontânea (Carter *et al.*, 1978; Comer & Ling, 1981; Padilla *et al.*, 1981; Allen *et al.*, 1987). A realização de antibiograma, ou teste de sensibilidade a antimicrobianos, é de extrema importância, devendo ser realizado na sequência da urocultura.

O presente trabalho tem como objetivos realizar estudo qualitativo e quantitativo de agentes bacterianos causadores de infecção do trato urinário inferior de cães trazidos ao Hospital Veterinário da FCAVJ-UNESP como também determinar a sensibilidade dos agentes isolados frente a antimicrobianos usualmente utilizados em medicina veterinária.

Para o isolamento de bactérias Gram negativas, a urina foi semeada em agar MacConkey e, as colônias fermentadoras e não da lactose (Lac⁺ e Lac⁻), crescidas após incubação por 24-48 horas a temperatura de 37° C foram identificadas através de testes bioquímicos (ÁVILA *et al.* 1986 e KONEMAN *et al.* 2001).

Para o isolamento de bactérias Gram positivas, a urina foi semeada em placas contendo ágar nutriente hipercloretado (Ni) e incubadas a 37° C por 24 horas em aerobiose. As colônias são analisadas macroscopicamente quanto à morfologia (método de Gram), produção de pigmento e hemólise (ITO *et al.*, 1969 e KONEMAN *et al.* 2001).

Para a urocultura quantitativa, um mililitro da urina dos cães diluída a 10⁻¹, 10⁻² e 10⁻³, foi colocado em três placas estéreis e o ágar nutriente através de semeadura “pour plate” é colocado sobre a urina. Após solidificação as placas foram incubadas a 37° C por 24-48 horas (Wooley & Blue, 1976; Carter *et al.*, 1978; Padilla *et al.*, 1981; Comer & Ling, 1981; Lees *et al.*, 1984; Allen *et al.*, 1987; Lees, 1996). O número de colônias contadas na placa multiplicado pelo fator de correção de diluição indica o número de unidades formadoras de colônia (UFC) por mililitro de urina (UFC/mL). Todas as cepas bacterianas isoladas, sejam de bactérias Gram positivas ou Gram negativas são submetidas a testes de sensibilidade frente a diferentes antimicrobianos. Alíquotas das culturas foram gotejadas de forma asséptica em tubos contendo 4mL de solução salina esterilizada. A seguir as culturas diluídas foram semeadas com o auxílio de “swabs” estéreis, em placas contendo ágar Mueller-Hinton e, após aproximadamente 3 minutos, tempo necessário para a secagem da superfície do meio foram colocados os polidiscos (Laborclín) contendo os antimicrobianos. A leitura foi realizada após 18 a 24 horas de incubação a 37° C através da medida dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada. Os diâmetros obtidos em milímetros são comparados com a tabela fornecida pelo fabricante dos discos utilizados (BAUER *et al.*, 1966). Os antibimicrobianos testados são: ácido nalidixico, amoxicilina, aztreonama, cefalotina (30µg), cefoperazona, ceftazidima, clorafenicol, danofloxacina, enrofloxacina, eritromicina (30µg), estreptomicina, gentamicina (10µg), penicilina, meropenem, neomicina, tetraciclina (30µg), ticarcilina e ácido clavulânico, nitrofurantoina (300µg), piperacilina e tazobactam, cotrimoxazol e trimetropina. .

Realizou-se urocultura e antibiograma em vinte e uma amostras e os resultados obtidos foram: *Escherichia coli*(57,14%), *Staphylococcus sp*(19,04%), *Proteus sp*(9,52%) e *Enterobacter sp*(14,34). Os antibióticos mais sensíveis para *Enterobacter sp* foram trimetoprim, meropenem, ticarcilina+ácido clavulônico, danofloxacina, ceftazidima, cloranfenicol e cotrimoxazol, *Proteus sp* ticarcilina+ácido clavulônico, meropenem, ceftazidima, amoxicilina e piperacilina+tazobactam, para *Staphylococcus sp* trimetoprim, gentamicina, cefoperazona, meropenem, danofloxacina, ceftazidima, cloranfenicol, piperacilina+tazobactam, enrofloxacina e cotrimoxazol e *E.coli* trimetopim, aztreonama, meropenem, ticarcilina+ácido clavulônico, danofloxacina, ceftazidima, cloranfenicol, cotrimoxazol e piperacilina+tazobactam.

Devido ao número de amostras de urina analisadas até o momento não se pode concluir de maneira estatística. Mais amostras vão ser colhidas e analisadas.

Referências Bibliográficas

- ALLEN, T. A., JONES, R. L., PURVANCE, J. **Microbiologic evaluation of canine urine: Direct microscopic examination and preservation of specimen quality of urine for culture.** *JAVMA*, Vol. 190, No. 10, May, 1987, p. 1289-1291.
- ÁVILA, F.A. Evaluation on the efficiency of a pili K99 – Bearing vaccine for the protection of cattle against colibacillosis. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, v.2, n.2, 1986, p.217-220.
- BARCELLOS, H. H. A., BRUN, M. V., RODRIGUES, L. B *et al.* **Cistite em cães com paresia dos membros posteriores.** *Anais do XXV Congresso Brasileiro da Anclivepa (Revista Anclivepa No. 2)*. Gramado, Brasil, 2004, p.52.
- BARSANTI, J. A., BLUE, J., EDMUNDS, J. **Urinary tract infection due to indwelling bladder catheters in dogs and cats.** *JAVMA*, Vol. 187, No. 4, August, 1985, p. 384-388.
- BARSANTI, J. A., JOHNSON, C. A. **Genitourinary Infections.** In: GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat.** W. B. Saunders, Philadelphia, EUA, 1990, p. 157-183.
- BIERTUEMPFEL, P. H., LING, G. V., LING, G. A. **Urinary Tract Infection Resulting from Catheterization in Healthy Adult Dogs.** *JAVMA*, Vol. 178, No. 9, May, 1981, p. 989-991.
- CARTER, J. C., KLAUSNER, J. S., OSBORNE, C. A., BATES, F. Y. **Comparison of Collection Techniques for Quantitative Urine Culture in Dogs.** *JAVMA*, Vol. 173, No. 3, August, 1978, p. 296-298.
- COMER, K. M., LING, G. V. **Results of Urinalysis and Bacterial Culture of Canine Urine Obtained by Antepubic Cystocentesis, Catheterization, and the Midstream Voided Methods.** *JAVMA*, Vol. 179, No. 9, November, 1981, p. 891-895.
- HIRSH, D. C., WIGER, N. **The bacterial flora of the normal canine vagina compared with that of vaginal exudates.** *J. small Anim. Pract.*, Vol. 18, 1977, p. 25-30.
- IHRKE, P. J., NORTON, A. L., LING, G. V., STANNARD, A. A. **Urinary tract infection associated with long-term corticosteroid administration in dogs with chronic skin disease.** *JAVMA*, Vol. 186, No. 1, January, 1985, p. 43-46.
- ITO, I.Y.; COSTA, A.; BARACCHINI, O. O emprego de gema de ovo no isolamento de *Staphylococcus aureus*. *An. Microbiol.*, v. 16, 1969, p. 189-192.
- KONEMAN, E. W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M.; SCHRECKENBERGER, P.C.; WINN JR, W.C. **Diagnóstico Microbiológico. Texto e Atlas Colorido.** 5 ed. Rio de Janeiro, MEDSI, 2001, 1465 p.
- LEES, G. E. **Bacterial Urinary Tract Infections.** *Vet. Clin. North Am.*, Vol. 26, No. 2, March, 1996, p. 297-304.
- LEES, G. E., SIMPSON, R. B., GREEN, R. A. **Results of analyses and bacterial cultures of urine specimens obtained from clinically normal cats by three methods.** *JAVMA*, Vol. 184, No. 4, February, 1984, p. 449-454.
- LING, G. V. **Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of canine urinary tract.** *JAVMA*, Vol. 185, No. 10, November, 1984, p. 1162-1164.
- LING, G. V., RUBY, A. L. **Aerobic Bacterial Flora of the Prepuce, Urethra, and Vagina of Normal Adult Dogs.** *Am. J. Vet. Res.*, Vol. 39, No. 4, April, 1978, 695-698.
- LIPPERT, A. C., FULTON, R. B., PARR, A. M. **Nosocomial Infection Surveillance in a Small Animal Intensive Care Unit.** *JAAHA*, Vol. 24, November/December, 1988, p. 627-636.
- LULICH, J. P., OSBORNE, C. A. **Infecções Bacterianas do Trato Urinário.** In: ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina Interna Veterinária.** Ed. Manole, 4^o ed., São Paulo, Brasil, 1997, p.2453-2470.
- MCGUIRE, N. C., SCHULMAN, R., RIDGWAY, M. D., BOLLERO, G. **Detection of Occult Urinary Tract Infections in Dogs with Diabetes Mellitus.** *JAAHA*, Vol. 38, November/December, 2002, p. 541-544.
- OSBORNE, C. A., LEES, G. E. **Bacterial Infections of the Canine and Feline Urinary Tract.** In: _____, FINCO, D. R. **Canine and Feline Nephrology and Urology.** Williams & Wilkins, Baltimore, EUA, 1995, p. 759-797.
- PADILLA, J., OSBORNE, C. A., WARD, G. E. **Effects of Storage Time and Temperature on Quantitative Culture of Canine Urine.** *JAVMA*, Vol. 178, No. 10, May, 1981, p. 1077-1081.
- RUBIN, S. I. **The procedures that confirm and localize a urinary tract infection.** *Veterinary Medicine*, Vol. 85, No. 4, April, 1990, p. 352-364.

SHAW, D. H. **A systemic approach to managing lower urinary tract infections.** *Veterinary Medicine*, Vol. 85, No. 4, April, 1990, p. 379-386.

Bolsa: CNPq/PIBIC
