

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**COMPOSIÇÃO DE URÓLITOS VESICAIS DE CÃES DETERMINADA  
POR ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) E  
ANÁLISE QUÍMICA**

Paula Costa Ariza

Orientadora: Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti

GOIÂNIA

2014



## Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico:  Dissertação  Tese

### 2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Paula Costa Ariza** E-mail: **paula.c.ariza@outlook.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?  Sim  Não

Vínculo Empregatício do autor: Agência de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

País: **Brasil** UF: **Distrito Federal** CNPJ: **33654831-0001/36** Sigla: **CNPq**

Título: **COMPOSIÇÃO DE URÓLITOS VESICAIS DE CÃES DETERMINADA POR ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) E ANÁLISE QUÍMICA** Palavras-chave: **cálculos urinários, cálculos vesicais, estruvita, fosfato de cálcio, urolitíase**

Título em outra língua: **DOG BLADDER UROLITHS COMPOSITION DETERMINED BY ENERGY DISPERSIVE SPECTROSCOPY (EDS) AND CHEMICAL ANALYSIS**

Palavras-chave em outra língua: **bladder calculi, calcium phosphate, struvite, urinary calculi, urolithiasis**

Área de concentração: **Patologia, Clínica e Cirurgia Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **04/11/2014**

Programa de Pós-Graduação: **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

Orientador(a): **MARIA CLORINDA SOARES FIORAVANTI** E-mail: **mariaclorinda@gmail.com**

Co-orientador(1): **LUIZ ANTONIO FRANCO DA SILVA** E-mail: **lafranco@vet.ufg.br**

Co-orientador(2): **NAIDA CRISTINA BORGES** E-mail: **naidaborges@yahoo.com.br**

### 3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?<sup>1</sup>  total  parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[ ] Capítulos. Especifique:

[ ] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 5 de fevereiro de 2015

  
**PAULA COSTA ARIZA**  
Assinatura do(a) autor(a)

<sup>1</sup> Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

**PAULA COSTA ARIZA**

**COMPOSIÇÃO DE URÓLITOS VESICAIS DE CÃES DETERMINADA  
POR ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) E  
ANÁLISE QUÍMICA**

Dissertação apresentada para obtenção  
do grau de Mestre em Ciência Animal  
junto à Escola de Veterinária e Zootecnia  
da Universidade Federal de Goiás

**Área de Concentração:**  
Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

**Orientadora:**

Profª. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti

**Comitê de Orientação**

Prof. Dr. Luiz Antônio Franco da Silva

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Naida Cristina Borges

GOIÂNIA

2014

Ficha catalográfica elaborada  
automaticamente com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Ariza, Paula Costa

Composição de urólitos vesicais de cães determinada por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e análise química [manuscrito] / Paula Costa Ariza. - 2014.  
x, 51 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2014.

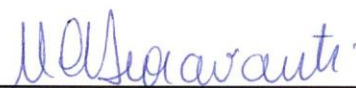
Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, fotografias, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. cálculos urinários. 2. cálculos vesicais. 3. estruvita. 4. fosfato de cálcio. 5. urolitíase. I. Fioravanti, Dra. Maria Clorinda Soares, orient. II. Título.

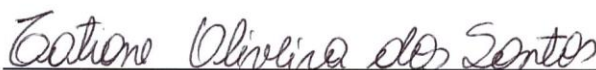
**PAULA COSTA ARIZA**

Dissertação defendida e aprovada em **04/11/2014**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



---

Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti  
(ORIENTADOR (A))



---

Dra. Tatiane Oliveira dos Santos



---

Profa. Dra. Aline Maria Vasconcelos Lima

## DEDICATÓRIA

A Deus, pela iluminação e oportunidades de continuar crescendo.

Aos meus pais e a minha irmã, pelo apoio incondicional oferecido.

Ao meu namorado Arnaldo, por estar ao meu lado em todas situações.

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti, pelos conselhos, incentivo, suporte e amizade.

À minha colega e grande amiga Nathália Bragato, ultrassonografista pela contribuição e ajuda oferecidas.

À CAPES, pela bolsa concedida.

A todos os Médicos Veterinários que, com gentileza, me encaminharam urólitos para análise.

Ao LABMIC – UFG e toda sua equipe, pela excelência do serviço, orientação e conhecimento fornecidos.

À banca examinadora, por gentilmente aceitarem o convite de avaliação desta dissertação.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA .....	3
2.1. Urolitíase .....	3
2.2. Formação e desenvolvimento dos urólitos .....	4
2.3. Caracterização dos urólitos.....	7
2.4. Tipos de urólitos .....	9
2.4.1. Cálculo de estruvita .....	9
2.4.2. Cálculo de oxalato de cálcio .....	10
2.4.3. Cálculo de fosfato de cálcio.....	12
2.4.4. Cálculo de urato.....	12
2.4.5. Cálculo xantina.....	14
2.4.6. Cálculo cistina .....	14
2.4.7. Cálculo de sílica .....	15
2.5. Diagnóstico da urolitíase .....	15
2.6. Avaliação da composição dos urólitos .....	18
2.6.1. Análises quantitativas químicas.....	20
2.6.2. Espectroscopia de energia dispersiva (EDS).....	20
2.7. Justificativa.....	21
2.8. Objetivos.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1. Preparo das amostras para análise química e para cobertura com filme de ouro ou carbono .....	23
3.2. Análise química .....	23
3.3. Cobertura com filme de ouro ou carbono.....	24
3.4. Microscopia e espectroscopia de energia dispersiva .....	24
3.5. Análises estatísticas .....	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	27
4.1. Composição mineral dos urólitos .....	28
4.2. Relação entre estruvita e fosfato de cálcio .....	31
4.3. Frequência da urolitíase segundo o sexo e status reprodutivo .....	31
4.4. Frequência da urolitíase segundo o a idade .....	32
4.5. Frequência da urolitíase segundo a raça .....	34
4.6. Sinais clínicos e cristalúria .....	37
4.7. Presença de bacteriúria .....	38
4.8. Comparação entre análise química e EDS.....	39
5. CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS .....	43
ANEXO A - Aprovação no comitê de ética .....	50

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Micrografia de porção de urólito canino onde podem ser visualizadas suas regiões distintas. N: núcleo. PD: pedra. PA: parede.....	8
FIGURA 2	Gráficos de EDS de regiões de urólitos caninos com diferentes composições. A: estruvita. B: estruvita e fosfato de cálcio. C: oxalato de cálcio. D: urato. E: estruvita, sílica e fosfato de cálcio.....	25
FIGURA 3	Microscopia eletrônica de urólitos caninos. A: urólito com arquitetura normal, onde podem ser observadas as diferentes regiões (núcleo-N, pedra - PD e parede - PA), bem como os anéis concêntricos de crescimento do urólito. B: Urólito com arquitetura diferenciada, dividida em 4 zonas distintas (Z1, Z2, Z3, Z4) e uma zona central (ZC).....	27
FIGURA 4	Minerais apresentados em urólitos caninos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	28
FIGURA 5	Gráfico da proporção dos minerais nos urólitos dos cães pela idade – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	33
FIGURA 6	Número absoluto das raças dos animais que apresentaram urolitíase – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	34
FIGURA 7	Sinais clínicos apresentados por cães acometidos por urolitíase – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	37
FIGURA 8	Presença de bacteriúria em relação aos compostos presentes no nos urólitos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	38
FIGURA 9	EDS no modo <i>linescan</i> de urólito canino composto de magnésio e fosfato de cálcio. Nota-se aumento de cálcio quando há diminuição de magnésio, mas não de fosfato, indicando que na região com maior concentração de fosfato de cálcio, houve redução da concentração de estruvita. No entanto, ambos os compostos estavam presentes em todo o urólito.....	40

**LISTA DE TABELAS**

TABELA 1	Presença dos compósitos estruvita e fosfato de cálcio nos urólitos de cães – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	31
TABELA 2	Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compósitos nas diferentes regiões do urólito, pelo sexo do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	31
TABELA 3	Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compósitos no núcleo, pelo sexo do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	32
TABELA 4	Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compósitos pelo intervalo de idade do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.....	33

## RESUMO

A urolitíase acomete frequentemente e de maneira recorrente os cães. Os urólitos são concreções cristalinas que se formam no lúmen do trato urinário devido à supersaturação da urina por minerais. Podem levar a graves consequências, como a obstrução do fluxo urinário. O tratamento eficaz depende da análise adequada da composição dos urólitos presentes. Com o presente estudo objetivou-se avaliar a composição de cálculos urinários de cães atendidos no Município de Goiânia, fazendo uso de análise química por meio o uso de reagentes comerciais e da espectroscopia de energia dispersiva – EDS, de modo a estabelecer a relação entre a composição dos urólitos e características individuais e clínicas dos animais, bem como a comparação entre ambas as técnicas. Foram analisados 55 urólitos cirurgicamente removidos da vesícula urinária de cães. Dos cálculos analisados, 51 apresentaram estruvita (15 de maneira isolada), 32 fosfato de cálcio (todos associados à estruvita), cinco oxalato de cálcio (dois apenas com esse mineral), cinco urato (dois apenas com esse mineral) e quatro sílica (nenhum apresentava sílica isoladamente em sua composição). A combinação mais comum foi a de estruvita com fosfato de cálcio. O EDS permitiu a avaliação da composição das diferentes regiões dos cálculos de maneira independente, bem como a análise microscópica da estrutura do mesmo, mas não possibilitou a identificação específica do urato. Desse modo a sua associação à técnica química a torna uma técnica eficiente para a análise dos urólitos.

Palavras-chave: cálculos urinários, cálculos vesicais, estruvita, fosfato de cálcio, urolitíase.

## ABSTRACT

Dog bladder uroliths composition determined by energy dispersive spectroscopy (EDS) and chemical analysis

Urolithiasis is frequently and recurrently observed on dogs.. Uroliths are crystalline concretions that form in the lumen of the urinary tract due to urine oversaturation by minerals. They may lead to serious consequences, such as obstruction of the urinary flow. An efficient treatment depends on the compositional analysis of the uroliths. This study aimed to evaluate the composition of dog's urinary calculi in the city of Goiânia, by using chemical analysis and energy dispersive spectroscopy – EDS. Comparisons between the composition found and individual and clinical characteristics of the patients were made, as well as comparisons between both techniques. Analysis were held on 55 surgical removed uroliths from the bladder of dogs. Struvite was present in 51 of the uroliths (15 isolatedly), calcium phosphate in 32 (always associated to struvite), calcium oxalate in five (two isolatedly), urate in five (two isolatedly) and silica was present in four (none of the uroliths was composed only by silica). The most common combination of compounds was that of struvite and calcium phosphate. EDS permitted both the evaluation of the different regions of the uroliths and the microscopical observation of the sample structure, but didn't allow the correct identification of the urate. The association between both techniques was efficient on evaluating the calculi composition.

**Key words:** bladder calculi, calcium phosphate, struvite, urinary calculi, urolithiasis.

## 1. INTRODUÇÃO

O trato urinário pode ser acometido por diversas enfermidades. A urolitíase é uma afecção metabólica que frequentemente afeta os animais domésticos e os seres humanos e que possui altos índices de recorrência. Os urólitos são formados por precipitação anormal de cristais em uma urina supersaturada. A presença de concreções ao longo do trato urinário pode levar a problemas como inflamação local ou mesmo obstrução e, por esse motivo, possui grande importância clínica.

Os urólitos podem apresentar diferentes minerais em sua composição e o tratamento correto, bem como a prevenção da recorrência do problema dependem de quais minerais estão presentes. A composição também tem relação com a compreensão dos fatores que podem ter ocasionado o desenvolvimento primário da urolitíase. Dessa forma, já que o problema não se encerra com a remoção dos urólitos, é importante proceder a análise da composição dos mesmos. Existem diversas técnicas que podem ser utilizadas. A análise química se baseia em reações para identificar a presença de determinados radicais químicos, enquanto a espectroscopia de energia dispersiva (EDS) é uma técnica que se utiliza de meios físicos (dispersão de energia) para identificar os elementos presentes em uma determinada amostra. É importante utilizar uma técnica que permita a obtenção do maior número de informações a respeito da composição, bem como do processo de desenvolvimento dos urólitos. Por se tratar de uma enfermidade de causas multifatoriais, o clínico veterinário necessitará dessas informações para que possa dar início e continuidade a um tratamento eficaz em longo prazo.

Estudos epidemiológicos com relação à composição dos urólitos também são necessários para aumentar o conhecimento sobre a enfermidade e para que se conheçam quais fatores estão agindo sobre uma determinada população em um determinado momento, levando ao desenvolvimento da enfermidade. O ideal é que esses estudos epidemiológicos sejam realizados também de forma contínua, para estabelecer até mesmo os eventos que ocasionam alterações na formação e composição dos urólitos.

Diversos fatores externos ao organismo do animal podem interferir na composição dos cálculos urinários desenvolvidos, bem como na epidemiologia da enfermidade em uma determinada região geográfica. Podem ser citados a popularidade das diferentes raças e do tamanho dos animais; a possível preferência da população por um ou outro sexo; as particularidades econômicas, sociais e culturais locais; as características de manejo e tipo de

alimentação fornecida; a qualidade do solo e da água e também o acesso a atendimento médico veterinário pela população.

Devido à importância da enfermidade e à necessidade de ampliar o conhecimento a seu respeito, foram feitas análises da composição de urólitos caninos cirurgicamente removidos no município de Goiânia por meio de EDS e análise química, duas técnicas que, quando utilizadas de maneira complementar são eficientes na identificação dos compostos presentes. Os resultados foram então relacionados às características dos pacientes para gerar informações acerca da epidemiologia da urolitíase na região.

## 2. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

### 2.1. Urolitíase

O termo urolitíase refere-se às causas e efeitos da presença de precipitados minerais macroscópicos, os urólitos, em qualquer segmento do trato urinário<sup>1</sup>. Embora as causas não estejam bem estabelecidas, sabe-se que a enfermidade decorre da interação de diversos fatores familiares, congênitos e adquiridos. Essa interação aumenta o risco de precipitação de metabólitos sob a forma de cristais na urina, fator primordial da formação dos urólitos<sup>1,2</sup>.

A urolitíase é uma afecção relativamente comum na clínica de pequenos animais e é a terceira enfermidade mais comum do trato urinário dos cães<sup>3</sup>. A prevalência nesses animais é variável e diferentes estudos indicam valores que oscilam de 0,5% a 1%<sup>3</sup>, de 1,5% a 3,0%<sup>4</sup>, ou mesmo em torno de 1,6%<sup>5</sup>. As recidivas são frequentes e, por esse motivo, devem ser tomadas medidas de tratamento e manejo em longo prazo dos animais afetados<sup>5,6,7,8,9</sup>.

A presença de urólitos no trato urinário pode ocasionar diversas consequências, como inflamações e lesões no uroepitélio, infecções e, em casos mais graves, obstrução parcial ou total do fluxo urinário, resultando em uremia, injúria renal e morte<sup>5,10,11</sup>.

A urolitíase ocorre devido à supersaturação da urina por cristais; à ação de promotores de nucleação e de crescimento e agregação; e à redução da atividade dos componentes urinários inibidores desse processo. A formação dos urólitos é influenciada por diversos fatores de risco, sendo que apenas alguns são conhecidos. Destes, podem ser citados raça, sexo, idade, pH urinário, anormalidades anatômicas e de metabolismo, infecções urinárias e características da dieta<sup>1,4,6</sup>. A administração de determinadas drogas como alcalinizantes ou acidificantes de urina, corticosteróides e quimioterápicos também pode contribuir para a formação e desenvolvimento de concreções urinárias<sup>1</sup>. Fatores ambientais relacionados à região em que o animal vive como características e qualidade de solo e água, como por exemplo, seu pH, também podem influenciar na ocorrência desse fenômeno<sup>1</sup>. As características epidemiológicas da urolitíase, bem como seus fatores de risco, são afetados por particularidades regionais e mesmo temporais, aumentando a complexidade do estabelecimento de quais fatores estão presentes em cada caso<sup>12,13</sup>.

A supersaturação por cristais, de maneira isolada, não leva necessariamente ao desenvolvimento dos urólitos<sup>14,15</sup>, pois existem outros elementos envolvidos no processo,

como os fatores de inibição da nucleação e de crescimento e agregação<sup>14</sup>. Nem todos os fatores de risco e de proteção contra a formação de urólitos possuem igual importância. Dependendo da composição do urólito, cada um desses elementos pode ter um papel significativo ou limitado na patogenia do problema<sup>1</sup>. A urolitíase é, portanto, uma enfermidade multifatorial e de desenvolvimento complexo.

A determinação dos diferentes fatores de risco envolvidos no desenvolvimento da urolitíase é importante para que sejam identificadas as populações e os animais suscetíveis visando aumentar a precocidade do diagnóstico e a redução da exposição desses animais a esses mesmos fatores e eventos e, dessa forma, prevenir a ocorrência e minimizar a recorrência das urolitíases<sup>1,6</sup>. O conhecimento com relação à epidemiologia da enfermidade nas diferentes regiões geográficas se faz necessário para que sejam identificadas as características e tendências associadas a ela. É importante que se conheçam relações das características da urolitíase com elementos ligados ao paciente e ao ambiente para auxiliar os clínicos a aprimorar a eficiência do diagnóstico e os cientistas a identificar possíveis modelos de estudo<sup>13</sup>.

Recidivas são muito frequentes, especialmente em se tratando de urolitíases por cistina e urato, por terem como causa, enfermidades metabólicas. Por esse motivo, deve ser instaurado tratamento profilático, associado ao monitoramento do paciente com histórico da enfermidade<sup>16</sup>.

## **2.2. Formação e desenvolvimento dos urólitos**

A espécie canina é utilizada como modelo de estudo da urolitíase em seres humanos e, por esse motivo, o comportamento do desenvolvimento de urólitos nessa espécie é bastante estudado<sup>17</sup>. No entanto, a etiologia da urolitíase é bastante complexa e diversos fatores estão envolvidos de maneira concomitante<sup>9</sup>.

O sistema urinário dos animais e seres humanos tem a função de eliminar metabólitos na forma líquida. No entanto, alguns dos metabólitos a ser eliminados são menos solúveis e podem se precipitar como cristais na urina<sup>4,6,18</sup>. Caso permaneçam no lúmen do trato urinário, esses cristais litogênicos microscópicos podem se combinar e levar ao desenvolvimento de urólitos macroscópicos que podem causar diversas alterações, como as obstruções parciais ou totais<sup>6,18</sup>.

O desenvolvimento de um cálculo urinário dá-se pelas fases de iniciação e de

crescimento. Essas fases são distintas e complementares<sup>4</sup>. Os fatores que predispõem a formação de urólitos nos animais são os mesmos observados em humanos<sup>17</sup>. As etapas fisiológicas que levam à formação e ao desenvolvimento dos urólitos são divididas em: supersaturação, nucleação e crescimento e agregação das partículas e cristais<sup>19</sup>.

A supersaturação da urina com minerais litogênicos é fator determinante e iniciador para que haja a formação de cálculos urinários<sup>18</sup>. Na circunstância de uma urina supersaturada, se houverem cálculos presentes, eles podem continuar crescendo. Mas na ausência de cálculos já formados, o grau de supersaturação deverá ser maior, para que a precipitação ocorra<sup>4,7,19</sup>. A supersaturação é influenciada por três fatores: aumento do grau de excreção urinária dos minerais, redução dos inibidores de cristalização na urina e pH urinário<sup>7</sup>.

A nucleação ocorre quando há precipitação dos cristais na urina supersaturada e iniciação da formação da fase sólida<sup>20</sup>. Pode ser homogênea, quando a supersaturação isoladamente leva à precipitação espontânea dos cristais e à formação do urólito; ou heterogênea, quando o cálculo se desenvolve pela precipitação dos cristais sobre material sólido pré-existente no lúmen do trato urinário. A fase sólida reduz o nível necessário de supersaturação para que haja precipitação. A nucleação heterogênea pode acontecer ao redor de um núcleo pré-formado por meio da nucleação homogênea, ou mesmo ao redor de materiais estranhos ao trato urinário, como fios de sutura, cateteres, material cirúrgico, dentre outros<sup>7,18,19,21</sup>. Para o crescimento e agregação dos minerais, o teor de supersaturação necessário é menor pela presença de substância sólida no lúmen do trato urinário, fator que também explica a nucleação heterogênea<sup>7,21</sup>.

Há três teorias não mutuamente exclusivas que explicam a fase de litogênese: teoria da precipitação e cristalização, teoria da nucleação da matriz e teoria da inibição da cristalização. Na teoria da precipitação e cristalização, a formação dos urólitos depende apenas da supersaturação da urina e não envolve presença de matriz ou redução de inibidores de cristalização; os cristais precipitam e ocorre a nucleação. Na teoria de nucleação da matriz, a nucleação é dependente, além da supersaturação urinária, da presença das mucoproteínas da matriz, que agindo como núcleo inicial, provocaria a agregação dos cristais sobre ela. Já na teoria da inibição da cristalização, a formação dos cálculos depende da redução de inibidores da cristalização associada à supersaturação da urina<sup>4</sup>.

Os fatores de inibição da nucleação e do crescimento e agregação de cristais podem possuir grande importância no processo de desenvolvimento dos cálculos urinários. Esses fatores fornecem proteção contra o desenvolvimento de cálculos urinários em

indivíduos normais e a sua deficiência na urina pode predispor à urolitíase<sup>14,15</sup>. Alguns fatores inibidores são as glicoproteínas, o pirofosfato, o citrato, os glicosaminoglicanos e a nefrocalcina<sup>4,19</sup>. Alguns minerais, que agem na formação de alguns urólitos também podem inibir o desenvolvimento de outros, como por exemplo o magnésio, que entra na composição da estruvita, pode agir como inibidor de urólitos de oxalato de cálcio. Em contrapartida, determinados minerais que também entram na composição de alguns urólitos também podem participar na cristalização de outros tipos minerais, como o ácido úrico, formador de urólitos de urato e que pode estimular a deposição de cristais de oxalato de cálcio<sup>22,23</sup>. As alterações dos fatores de inibição da formação de urólitos podem ser qualitativas e não necessariamente quantitativas<sup>14</sup>.

Diversas substâncias na urina podem atuar como inibidores de crescimento e agregação de cristais, mas o comportamento específico dessas substâncias, e como elas interagem entre si não estão totalmente estabelecidos<sup>4,19</sup>. A urina normal possui a capacidade de inibir o desenvolvimento de cristais, impedindo o processo de nucleação dos urólitos e reduzindo a taxa de crescimento de cálculos muito pequenos e indetectáveis<sup>20,24</sup>.

Glicoproteínas são inibidores da formação de cálculos urinários. E os glicosaminoglicanos possuem papel determinante na urolitíase por oxalato de cálcio<sup>14</sup>. Na urina dos pacientes que desenvolvem urolitíase, as glicoproteínas também se encontram presentes. No entanto, são menos eficientes e possuem composição e propriedades físicas anormais. Dessa forma, essas desordens moleculares estão relacionadas à formação de cálculos urinários<sup>20</sup>. A atividade inibidora das proteínas na urina depende apenas parcialmente da sua concentração<sup>14</sup>.

Há uma relação complexa entre os diversos componentes urinários. Por exemplo, substâncias orgânicas naturalmente encontradas na urina e que agem como inibidores da deposição de cristais de oxalato de cálcio (como as glicosaminoglicanas) podem ser inativadas pela presença de uratos<sup>22</sup>. Entretanto, essa afirmação não é verdadeira para todos os inibidores. A atividade da nefrocalcina como inibidor da cristalização de oxalato de cálcio, por exemplo, permanece inalterada sob altos níveis de urato, o que demonstra a complexidade da relação dos diferentes compostos urinários<sup>15</sup>.

Não há associação entre alto grau de dureza da água (determinado pela concentração de íons, especialmente cálcio e magnésio – quanto mais íons, maior o grau de dureza)<sup>25</sup> com a formação de urólitos<sup>12</sup>. Normalmente, a formação dos cálculos urinários é um processo com duração de semanas a meses<sup>18</sup>.

Após a formação de um cálculo urinário, ele pode se dissolver de maneira

espontânea, continuar crescendo como urólito ativo, ou permanecer do mesmo tamanho, se tornando um urólito inativo. Ou mesmo, se seu tamanho for reduzido o suficiente, pode ser expelido do trato urinário sem causar danos ao mesmo. O crescimento total de um urólito é resultado das fases de nucleação e crescimento<sup>4,19</sup>. Os urólitos ativos podem continuar crescendo com a deposição dos mesmos tipos de cristais que levaram à iniciação do urólito, ou com cristais diferentes, se a supersaturação ocorrer por outros tipos de minerais, levando a uma variação na composição dos urólitos<sup>1,4,7</sup>.

O crescimento de um urólito depende principalmente da existência de cristais na urina supersaturada e não tem mais relação com redução de fatores de inibição da litogênese. O grau de supersaturação necessário para o crescimento é também muito menor que aquele necessário para a ocorrência da nucleação espontânea<sup>4</sup>.

### **2.3. Caracterização dos urólitos**

Os urólitos, assim como os cristais urinários microscópicos são agregados sólidos cristalinos<sup>19</sup>, podendo conter também substâncias não cristalinas, que se formam no trato urinário. Podem ser compostos de um ou mais tipos minerais, que podem estar depositados em camadas ou distribuídos de forma mista por todo o urólito<sup>18,23</sup>. Também é possível que algumas drogas se precipitem sob a forma de cristais na urina, podendo originar cálculos urinários<sup>18</sup>.

Os urólitos podem ser múltiplos ou únicos e os tamanhos são muito variáveis<sup>5</sup>. Não existe um consenso em se tratando da classificação dos urólitos quanto à quantidade de componentes encontrados em sua composição. Podem ser classificados, por exemplo, em simples (mais de 70% de sua composição é de apenas um tipo de mineral), mistos (apenas uma camada identificável, sem predomínio de mais de 70% de um mineral), ou compostos (camadas justapostas com composições minerais distintas). Também são classificados como compostos os urólitos que se formam ao redor de material estranho ao trato urinário, como fios de sutura, cateteres urinários, objetos metálicos entre outros<sup>7</sup>.

A maioria dos urólitos é classificada como simples, e é composta de um único tipo mineral, ou adicionado de quantidades muito pequenas de outros minerais. Em uma mesma camada do cálculo, também podem estar presentes mais de um composto mineral<sup>7,23</sup>.

Os urólitos normalmente são divididos em áreas distintas: o núcleo, a área central de iniciação do desenvolvimento do urólito, nem sempre localizado no centro geométrico

deste; a pedra, maior região do urólito; a parede, que é a região que circunda completamente a pedra e de maneira concêntrica (Figura 1); e os cristais de superfície, que podem encontrar-se exteriores à parede, mas não a circundam de maneira completa<sup>7,18</sup>.

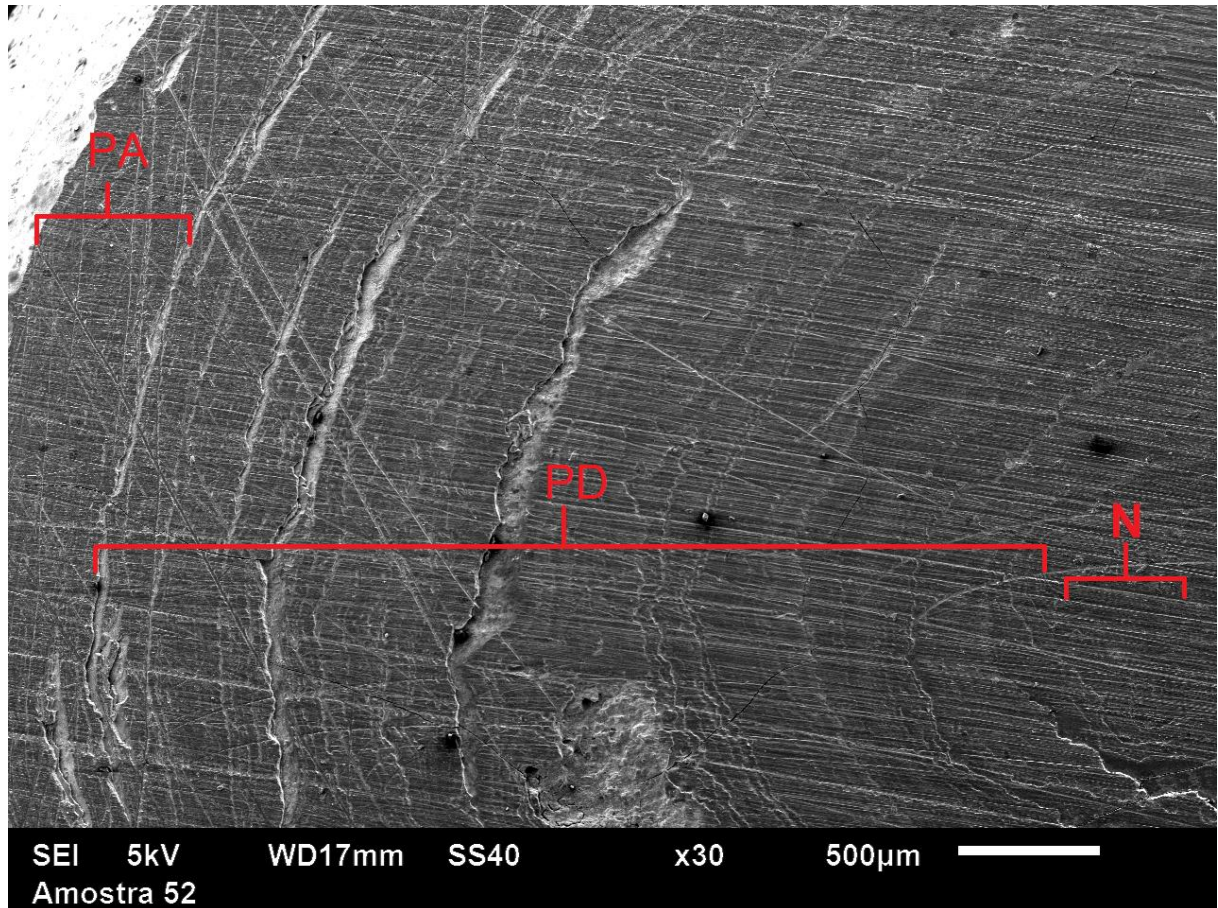


FIGURA 1- Micrografia de porção de urólito canino onde podem ser visualizadas regiões distintas. N: núcleo. PD: pedra. PA: parede

Nos cães, a localização mais comum dos urólitos é na vesícula urinária<sup>1,4,5,11</sup>. Nos humanos os nefrólitos são mais comuns que os cálculos vesicais<sup>23</sup>. A idade dos cães afetados varia muito, mas a maioria dos casos é descrita na idade adulta. Os mais afetados são os animais machos, adultos e de raça definida, sendo que a ocorrência está distribuída em diversas raças<sup>5</sup>.

Os diferentes tipos de urólitos possuem aparências típicas, de acordo com sua composição, mas não são incomuns os cálculos que não se apresentam sob essas formas. Portanto, a composição interna de um cálculo não pode ser determinada pela aparência exterior do mesmo<sup>18</sup>.

Além dos cálculos urinários compostos por minerais, há também, aqueles formados por metabólitos de drogas, que são menos comuns. As substâncias mais

frequentemente encontradas compondo os urólitos são: estruvita (fosfato de amônio magnésiano), oxalato de cálcio (nas formas mono e dihidratada), fosfato de cálcio (hidroxilapatita, carbonato apatita e brushita), uratos (sais de sódio ou amônio), sílica e cistina<sup>13,26</sup>. Os dois tipos de cálculos mais frequentes nos cães são aqueles compostos de estruvita e oxalato de cálcio<sup>1,9,26,27,28</sup>.

## 2.4. Tipos de urólitos

### 2.4.1. Cálculo de estruvita

A estruvita ou fosfato de amônio magnésiano é historicamente o mineral mais frequentemente encontrado nos urólitos caninos<sup>1,11,27,28</sup>. A grande maioria dos urólitos de estruvita se forma na bexiga, sendo que apenas 5% dos nefrólitos e ureterólitos são formados de estruvita<sup>29</sup>. Na espécie canina, infecções do trato urinário por bactérias produtoras de urease estão intimamente relacionadas à urolitíase por estruvita<sup>4,7,29</sup>. A bactéria mais comumente isolada nesses casos é *Staphylococcus intermedius*. Menos frequentemente tem-se *Proteus spp* e *Ureaplasma urolyticum*. A *Escherichia coli* não é produtora de urease e, embora seja frequentemente isolada do trato urinário, geralmente não ocasiona cálculos de estruvita<sup>18</sup>. Urina com pH alcalino e com cristais de magnésio e fósforo predispõe a formação de urolitíase por estruvita<sup>7</sup>.

A urease é uma enzima que, em presença de água, hidrolisa a uréia produzindo grandes quantidades de amônia e carbonato. A amônia se combina à água ou íons hidrogênio e forma íons amônio. Além disso, as bactérias produtoras de urease alcalinizam o pH urinário, já que a hidrólise eleva o pH do meio, favorecendo ainda mais a precipitação dos cristais de estruvita, uma vez que o pH elevado diminui a solubilidade do fosfato magnésiano de amônio<sup>4</sup>. Um pequeno percentual de cães pode desenvolver urólitos de estruvita sem a presença de infecção bacteriana<sup>27</sup>.

Nas fêmeas caninas, os urólitos mais comuns são os de estruvita (76,8%), seguidos por aqueles formados de oxalato de cálcio (12,9%)<sup>30</sup>. As fêmeas são mais predispostas à formação de cálculos de estruvita que os machos, pois são também mais suscetíveis às infecções urinárias devido às características anatômicas da uretra feminina, que possui lúmen mais largo e curto, o que facilita a entrada de bactérias no trato urinário de maneira ascendente<sup>1,8,9,27,28,29,31,32</sup>.

Os cálculos de estruvita ocorrem mais frequentemente em animais de raça do que naqueles sem raça definida. A raça Labrador Retriever possui uma alta taxa de formação de cálculos de estruvita<sup>31</sup>. Outras raças que comumente desenvolvem esse tipo de cálculo são Yorkshire Terrier, Cocker Spaniel, Schnauzer Miniatura e Bichon Frisé<sup>2,4</sup>.

Cálculos de estruvita são passíveis de dissolução, com uso de dieta litolítica e, em caso de infecção urinária, antibioticoterapia<sup>29</sup>. O controle de infecções urinárias, também auxilia na prevenção da ocorrência ou recorrência desse tipo de urólito<sup>4</sup>.

Dieta úmida com reduzida quantidade de proteína de alta qualidade, pequena quantidade de fósforo e magnésio e com suplementação de cloreto de sódio para estimular sede e poliúria é recomendada para a dissolução de cálculos de estruvita. O objetivo dessa dieta é aumentar a diluição da urina e reduzir as concentrações urinárias de fósforo, magnésio e ureia, que é hidrolisada pela urease bacteriana. A dieta litolítica não é recomendada em longo prazo. O uso de dieta específica pode levar à dissolução dos urólitos em duas a seis semanas, mas esse período pode variar muito, dependendo do tamanho e número de urólitos presentes<sup>29</sup>.

No caso do uso de dietas acidificantes, é importante que se faça o monitoramento da cristalúria do animal. Se houver cristalúria persistente, há o risco de induzir a formação de cálculos de oxalato de cálcio, pois os fatores que levam à formação de ambos os tipos de cálculos são opostos. Às vezes, pode ocorrer a deposição de cristais de oxalato de cálcio sobre urólito de estruvita, o que impede sua dissolução<sup>7,18</sup>.

#### 2.4.2. Cálculo de oxalato de cálcio

Nos cálculos urinários, o oxalato de cálcio pode se encontrar sob as formas monohidratada, mais comum nos cães, e dihidratada, menos comum<sup>18</sup>. Os cálculos de oxalato de cálcio são, historicamente, o segundo tipo de urólito mais frequente nos cães<sup>1,11,27,28</sup>. Nos humanos, o oxalato de cálcio é o urólito mais frequente, pois a urina humana é naturalmente supersaturada de cálcio. Os inibidores do crescimento de cristais de oxalato de cálcio possuem, portanto, um papel importante nessa espécie. A inibição observada na urina de seres humanos saudáveis é principalmente realizada pela presença glicoproteínas sob diversas formas moleculares<sup>33</sup>. Há uma forte relação entre o aumento da eliminação urinária de ácido úrico e urolitíase por oxalato de cálcio nos seres humanos, pela ação do ácido úrico sobre as glicoproteínas presentes na urina<sup>23</sup>.

Pacientes humanos que desenvolvem cálculos de oxalato de cálcio produzem glicoproteínas menos eficientes na inibição da formação de urólitos. Alterações moleculares nas glicoproteínas, que são inibidores desse tipo de urólito, podem ser responsáveis em parte pela formação de cálculos de oxalato de cálcio. Nos pacientes formadores desse tipo de cálculos, essas moléculas possuem menor afinidade por cristais e poucas propriedades surfactantes quando comparados aos não formadores de cálculos<sup>20</sup>. Outros fatores além dos glicosaminoglicanos podem agir como inibidores do desenvolvimento de cálculos de oxalato de cálcio e também podem estar alterados<sup>14</sup>.

Urina com pH ácido e com presença de cristais de cálcio e oxalato predispõe a formação de urolitíase por oxalato de cálcio<sup>7</sup>. O hiperadrenocorticismismo é uma condição que favorece o desenvolvimento de cálculos contendo cálcio em sua composição. Isso ocorre devido à produção anormal de cortisol pelas adrenais, o que leva ao aumento da reabsorção óssea de cálcio, aumento da concentração sérica do mineral e a uma excreção urinária também aumentada do mesmo<sup>7,34</sup>. A acidose associada à dieta acidificante ou acidificantes urinários também podem levar à hiper calciúria e formação de urólitos de oxalato de cálcio<sup>7</sup>.

Cálculos de oxalato de cálcio são mais frequentes nos machos que nas fêmeas<sup>1,8,9,26,27,28,30,32</sup>. As fêmeas de Schnauzer possuem a mesma chance de desenvolver urólitos de oxalato de cálcio e de estruvita, diferentemente das fêmeas de outras raças<sup>27</sup>. A urolitíase por oxalato se desenvolve principalmente em cães de raças pequenas<sup>28,31,35</sup>. A probabilidade de formação dos cálculos de oxalato de cálcio aumenta com a idade do animal, por essa razão a ocorrência de cálculos de oxalato de cálcio se dá em animais mais velhos que aqueles que desenvolvem urólitos de estruvita<sup>26,28,30,31</sup>.

Os urólitos de oxalato de cálcio, uma vez formados, não podem ser dissolvidos<sup>7,29</sup>. Os únicos tratamentos possíveis são a remoção cirúrgica, ondas de choque e urohidropropulsão. Alterações na dieta podem, no entanto, evitar o crescimento dos urólitos presentes e minimizar a recorrência<sup>29</sup>. A dieta para cálculos de oxalato de cálcio deve reduzir a supersaturação da urina por cálcio e oxalato e aumentar a diluição da urina. É recomendado o uso de dieta úmida não acidificante, com baixos teores de cálcio e oxalato, além de quantidade adequada de fósforo para evitar a ativação renal da vitamina D. Também é indicado evitar suplementação de vitaminas D e C<sup>29</sup>. Dietas com baixas concentrações de proteína e que levam à alcalinização da urina são desejadas<sup>7</sup>.

É importante levar em consideração que o uso de dietas acidificantes para dissolver os cálculos de estruvita e alterações nas dietas de manutenção visando reduzir a cristalúria por estruvita podem aumentar a incidência de urólitos por oxalato de cálcio, já que

as condições para a deposição de oxalato de cálcio são opostas às de deposição de estruvita<sup>7,18,26</sup>. Dietas ricas em fontes de proteína vegetal contêm grandes quantidades de ácido oxálico e também podem facilitar a formação de cálculos de oxalato de cálcio<sup>7</sup>.

#### 2.4.3. Cálculo de fosfato de cálcio

O fosfato de cálcio nos cálculos pode estar nas formas de carbonato apatita, hidroxilapatita e brushita. Os fatores que aumentam o risco de um paciente desenvolver urólitos com esse composto são urina alcalina, excreção aumentada de fosfato e cálcio na urina e infecções urinárias por bactérias produtoras de urease. Essas bactérias hidrolisam a ureia em amônia e carbamato que entra na composição dos cálculos de fosfato de cálcio<sup>7</sup>. Causas que levam à hipercalcemia, como neoplasias, intoxicação por vitamina D e excesso de cálcio na dieta também podem predispor a esse tipo de urolitíase<sup>4</sup>.

Urólitos simples de fosfato de cálcio são pouco frequentes<sup>28</sup>, mas esse mineral está constantemente associado à estruvita em cálculos compostos e mistos. A maior parte dos urólitos formados por mais de um tipo mineral é composta de estruvita e fosfato de cálcio<sup>26,27,30</sup>.

A presença de fosfato de cálcio em conjunto com a estruvita indica que a urolitíase ocorreu devido à presença de infecção bacteriana e uma terapia específica para o fosfato de cálcio não se faz necessária. No entanto, se a terapia preconizada incluir dietas para acidificar a urina, é interessante que se faça o monitoramento da cristalúria do animal. Se persistir a cristalúria por cálcio, há o risco de induzir a formação de cálculos de oxalato de cálcio<sup>18</sup>. A acidificação da urina minimiza a formação de íons fosfato, inibindo a formação de cálculos de fosfato de cálcio. No entanto, pode favorecer a deposição de oxalato de cálcio, especialmente em uma urina que já apresenta supersaturação de cálcio<sup>7</sup>.

#### 2.4.4. Cálculo de urato

Os animais que desenvolvem cálculos de urato geralmente não apresentam cristalúria<sup>30</sup>. Em cães com *shunts* portossistêmicos, alterações hepáticas graves ou alterações metabólicas, a degradação das purinas não se completa e há aumento da excreção de ácido úrico, o que ocorre devido à deficiência da enzima ácido úrico oxidase, sintetizada no fígado.

Essa enzima é responsável por finalizar o metabolismo das purinas, agindo sobre o ácido úrico e formando a alantoína, que é mais solúvel<sup>36,37</sup>.

A raça Dálmata é a mais frequentemente afetada pela urolitíase de urato<sup>1,11,26,28,30,32,38</sup> e, por esta razão, os urólitos mais frequentes nesta raça são constituídos por urato<sup>8,9,18</sup>. De 26,5% a 34% dos Dálmatas desenvolvem urolitíase por urato em alguma fase da vida<sup>36,40</sup>.

Nos Dálmatas, assim como nos seres humanos formadores de cálculos por urato, a hiperuricosúria não se deve à redução da enzima ácido úrico oxidase, e sim à impermeabilidade parcial das membranas celulares hepáticas ao ácido úrico e à sua baixa taxa de reabsorção nos túbulos proximais<sup>4,15,36,39,40</sup>. Devido a um erro de metabolismo provocado pela mutação do gene SLC2A9, o produto principal do metabolismo das purinas é o ácido úrico e não a alantoína<sup>40</sup>. Por esse motivo, todos os Dálmatas excretam naturalmente grande quantidade de ácido úrico na urina e são potenciais formadores de urólitos de urato<sup>10,15,30,39,40</sup>. Os Dálmatas que formam cálculos de urato apresentam excreção urinária de proteína de Tamm-Horsfall e de glicosaminoglicanos reduzidas, quando comparados aos saudáveis. Também há aumento mais acentuado dos níveis urinários de ácido úrico nos cães afetados<sup>15</sup>.

Enquanto em cães de outras raças praticamente todo urato formado na degradação das purinas é metabolizado em alantoína, que é extremamente solúvel e excretada pelos rins, nos Dálmatas, apenas 30% a 40% da xantina é convertida em alantoína, o que eleva as concentrações séricas e urinárias de urato<sup>38</sup>.

Cães machos são mais predispostos a urolitíase por urato<sup>26,27,28,30</sup>. As fêmeas são raramente afetadas provavelmente porque eliminam com mais facilidade os pequenos cálculos de urato sem chegar a desenvolver sinais clínicos<sup>28</sup>.

Cálculos de urato se formam em urina ácida e estão associadas ao consumo de dietas ricas em proteínas, além das disfunções hepáticas e metabólicas que prejudicam o metabolismo das mesmas<sup>7</sup>. Esse tipo de urólito, em animais de raças diferentes da Dálmata pode ser indicativo de anormalidades portais ou disfunções hepáticas<sup>18,29</sup>

Urólitos de urato de amônio são passíveis de dissolução<sup>7,29</sup>. Em uma dieta para dissolução de cálculos de urato de amônio, se busca a redução da excreção urinária de ácido úrico e amônio<sup>18,29</sup>. As dietas recomendadas são aquelas que alcalinizam a urina (suplementação de citrato de potássio), com restrição de proteína e com alto teor de umidade<sup>7,29</sup>. O alopurinol também pode ser usado na terapia de dissolução. São indicados tratamentos dietético-profiláticos em cães com alta probabilidade de recorrência de calculose de urato<sup>29</sup>.

O alopurinol inibe a conversão de xantina em ácido úrico, no entanto, é importante lembrar que a xantina também pode se precipitar e formar urólitos, ou mesmo uma camada de deposição de xantina sobre o urólito de urato. Para evitar esse problema, é necessário associar o uso do alopurinol à redução da quantidade de purina na dieta. Portanto, o uso prolongado de alopurinol, como forma de profilaxia, deve ser evitado<sup>29</sup>.

#### 2.4.5. Cálculo de xantina

A xantina é produzida no metabolismo das purinas. Ela é convertida em ácido úrico pela ação da enzima xantina oxidase. Animais com xantinúria hereditária possuem deficiência dessa enzima e, nesses casos, a formação espontânea de urólitos por esse metabólito pode ocorrer, embora seja mais rara<sup>7,18,41</sup>. Os urólitos de xantina também podem ser iatrogênicos provocados pelo uso de alopurinol para tratamento de urolitíase por urato ou de leishmaniose<sup>4,7,18,41,42</sup>.

Com o uso do alopurinol, as concentrações urinárias de urato diminuem, mas as de xantina aumentam<sup>7,18,41,42</sup>. Dessa forma reforça-se a indicação de que altas doses de alopurinol ou sua prescrição por tempo prolongado não são recomendadas<sup>41,42</sup>.

Cálculos urinários de xantina são insolúveis<sup>4</sup>, ocorrem mais em machos<sup>26</sup> mas são pouco freqüentes nos cães<sup>30</sup>.

#### 2.4.6. Cálculo de cistina

A cistinúria nos cães ocorre por um erro hereditário metabólico no túbulo renal, de maneira que a cistina e outros aminoácidos não essenciais são excretados de maneira excessiva. Os cristais de cistina se precipitam com facilidade na urina, podendo formar urólitos<sup>3,4,18</sup>.

A cistina é muito pouco solúvel em urina ácida<sup>29,36</sup>. As chances de formação dos cálculos de cistina e urato diminuem com o aumento da idade<sup>28</sup>. Os urólitos de cistina afetam os machos em quase 100% dos casos<sup>2,28,30</sup>.

Os urólitos de cistina são passíveis de dissolução<sup>2,7,11,16,29</sup>; e para que isso ocorra, a solubilidade da cistina deve ser aumentada e a concentração desse tipo de cristal na urina deve ser reduzida<sup>2,16</sup>. Para tanto, deve-se alcalinizar a urina, reduzir as quantidades de

proteína na dieta, especialmente as fontes ricas em metionina, que é precursora de cisteína, além de aumentar a ingestão hídrica do paciente<sup>2,16,29</sup>. Determinadas drogas também podem ser utilizadas para terapia de dissolução desse tipo de urólito. Pode ser citada a D-penicilamine, que pode ocasionar diversos efeitos adversos, como vômitos, supressão da medula óssea, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade e teratogênese<sup>43</sup>. A droga N-(2-mercaptopropionil)-glicina (2-MPG), não encontrado no Brasil, também pode ser usada na terapia de dissolução<sup>18,29</sup>.

A recorrência de urolitíase por cistina em até 12 meses após a remoção ou dissolução é muito frequente e a presença de cristalúria por cistina deve ser monitorada e, se preciso, controlada com o uso de terapia dietética e de alcalinização da urina<sup>29</sup>.

#### 2.4.7. Cálculo de sílica

Dietas contendo como principais fontes de proteína os vegetais predisõem à urolitíase por sílica, pois possuem grandes quantidades de ácido silícico, aumentando a excreção de sílica na urina<sup>7,29</sup>. A composição da água e do solo também podem estar ligadas à ocorrência de urólitos por sílica<sup>32</sup>.

Urólitos de sílica ocorrem principalmente em machos e a raça Pastor Alemão é especialmente predisposta<sup>32,4</sup>. Recorrências de urolitíase por sílica são incomuns<sup>44</sup>. Esse tipo de cálculo não pode ser dissolvido com dieta ou medicamento<sup>4</sup>.

## 2.5. Diagnóstico da urolitíase

O diagnóstico da urolitíase é realizado com base em sinais clínicos associados a exames laboratoriais e de imagem como radiografia e ultrassonografia, palpação direta ou indireta com o uso de cateter uretral e, em alguns casos, pela eliminação de pequenos urólitos durante a micção<sup>4</sup>. O trato urinário responde de maneira limitada às várias enfermidades e os sinais clínicos são inespecíficos<sup>29</sup>.

O tipo de manifestação clínica depende da localização do urólito, do seu número e tipo. Os urólitos podem resultar dano ao uroepitélio, inflamação ou infecção do trato urinário. Podem ainda interferir com a frequência da micção e com a capacidade de eliminação da urina<sup>18</sup>.

Os cálculos urinários podem provocar lesões secundárias no trato urinário, mas em grande parte dos casos, cerca de 60,5%, são um achado incidental e não provocam lesões. Alterações que podem estar associadas à presença dos urólitos no trato urinário incluem cistite, obstruções uretrais, hidronefrose, ruptura vesical, pielonefrite, uretrite, obstrução vesical, dilatação vesical e ruptura uretral<sup>5</sup>. Se por um lado a presença de infecções no trato urinário aumenta o risco de ocorrência de urolitíase<sup>7</sup>, por outro a presença de cálculos também é fator de risco para infecções urinárias<sup>11,44</sup>. Portanto, animais com urolitíase frequentemente apresentam infecções<sup>11</sup>.

Os sinais podem incluir hematúria, que é o sinal clínico mais frequentemente relatado, estrangúria, anúria, disúria ou polaciúria, incontinência urinária e mudanças nos hábitos urinários<sup>3,4,5,12</sup>. Outra possível consequência da presença de urólitos é a obstrução do fluxo urinário, o que leva à azotemia, uremia pós-renal, destruição do parênquima renal e septicemia, se não tratada, culminando na morte do animal<sup>3,4,5,10,16</sup>. A maioria dos casos de obstrução do fluxo urinário ocorre nos machos, devido à sua uretra mais longa e delgada<sup>5</sup>.

Sinais sistêmicos como vômito, anorexia e letargia também podem estar presentes nos cães urêmicos. Ao exame clínico, podem ser notadas alterações como bexiga túrgida, repleta e sensível, além de dor na região renal. Cálculos palpáveis também podem ser percebidos ao exame físico, no entanto, são mais raros<sup>37</sup>. Casos assintomáticos são muito comuns e um animal pode possuir urólitos por anos sem desenvolver qualquer manifestação clínica<sup>4</sup>. Cerca de dois terços dos animais acometidos pela urolitíase são assintomáticos, o que dificulta o estabelecimento do diagnóstico precoce. Apesar disso, a urolitíase pode ser a causa de morte ou eutanásia de aproximadamente de 25% dos cães afetados. Na avaliação necroscópica, lesões secundárias à urolitíase estão presentes em 40% dos casos<sup>5</sup>.

O exame de urina é de extrema importância na urolitíase e, além de ser indicado para a avaliação da eficácia do tratamento, pode indicar alterações que permitem inferir a composição dos urólitos, considerando o tipo de cristal presente. No entanto, muitas vezes é mal interpretado, já que a presença de cristais na urina isoladamente não tem qualquer significado diagnóstico<sup>3,45,46</sup>. Os cristais que se formam em urina supersaturada representam um fator de risco para a urolitíase, mas não indicam a presença de urólitos e nem que estes se formarão<sup>2,46</sup>. A presença de cristalúria também podem indicar determinadas enfermidades ou alterações metabólicas. Cristais de xantina podem ser, por exemplo, indicativos de xantínia hereditária<sup>46</sup>.

A cristalúria deve ser interpretada com cuidado, uma vez que os mesmos cristais que se desenvolvem *in vivo*, podem se desenvolver *in vitro* e, a refrigeração acelera o

processo de formação *in vitro* dos cristais<sup>44,46</sup>. Fatores que podem influenciar a formação de cristais *in vitro* em amostras de urina incluem a temperatura, o tempo decorrido até a análise, pH urinário e a presença de bactérias contaminantes produtoras de urease. Espera-se que a urina analisada mantenha as mesmas características apresentadas *in vivo* e, como a refrigeração é o método preferencial de preservação da urina, é indicado que o exame seja realizado, no máximo, 60 minutos após a colheita da amostra<sup>18,46</sup> pois, embora a refrigeração preserve grande parte das propriedades físicas e químicas da urina e minimiza o crescimento bacteriano, ela aumenta a formação de cristais. A redução da temperatura leva à diminuição da capacidade das moléculas de água de impedir a atração entre íons formadores de cristais. A rápida realização do exame de urina minimiza a formações de cristais *in vitro*. Também podem ser colhidas duas alíquotas de amostra, uma a ser refrigerada e outra mantida a temperatura ambiente para minimizar a formação de cristais<sup>46</sup>. Se for constatada presença de cristais em urina refrigerada, é necessário que se faça uma nova análise<sup>18</sup>. A identificação de cristais formados *in vivo* pode ajudar na detecção de desordens que predisõem ao desenvolvimento dos urólitos e também na avaliação da eficácia dos protocolos de tratamento para a dissolução ou prevenção da urolitíase<sup>46</sup>.

A cristalúria, presente no exame de urina rapidamente realizado, apenas indica que no momento da colheita, a urina estava supersaturada das substâncias que formam os cristais, não sendo diagnóstico para a presença de urólitos. É importante salientar que a ausência de cristalúria também não indica a ausência de urólitos, mas é positiva, porque nessa condição, é minimizada a chance de crescimento dos urólitos ou de recorrência do problema<sup>18,46</sup>. A cristalúria persistente é um sinal de que há supersaturação da urina e é um marcador utilizado para identificar os pacientes com alto risco de desenvolver urolitíase. No entanto, como a supersaturação de alguns cristais ocorre em animais saudáveis, esse marcador também não é muito confiável<sup>45,46</sup>.

Já foi dito que os cristais na urina podem ser utilizados, em associação a outras informações, para estimar a composição dos urólitos desenvolvidos pelo animal, no entanto, não se devem jamais substituir técnicas específicas de análise da composição dos urólitos, pois a cristalúria não é um marcador consistente para a identificação da composição dos urólitos<sup>46</sup>.

As técnicas radiográficas possuem como objetivo, a confirmação da presença dos urólitos, bem como sua localização no trato urinário, identificação do número de cálculos e determinação de características como forma e radiodensidade. Também são úteis para a identificação de fatores morfofisiológicos predisponentes à urolitíase, como por exemplo a

presença de divertículo vesical. As características radiográficas dos urólitos são influenciadas pela composição, tamanho, número e localização dos mesmos<sup>4,46</sup>. Para identificar a presença de cálculos urinários na vesícula urinária, o exame de eleição é a cistografia de contraste duplo, devido à alta sensibilidade e baixa ocorrência de falsos negativos<sup>46,47</sup>. Radiografias simples aliada a cistografia de contraste duplo são, muitas vezes, necessárias para a confirmação da urolitíase<sup>29</sup>.

A utilização de técnicas radiográficas no auxílio à predição da composição considerando as características radiográficas do urólito oferece vantagens devido às várias informações obtidas com o uso dessa técnica, como a radiopacidade, uniformidade, forma e contorno da superfície do cálculo. A radiografia simples pode não detectar urólitos menores que 2 mm de diâmetro, ou formados de compostos com radiodensidade similar à dos tecidos moles adjacentes, como os cálculos de cistina, xantina e urato de amônio e, por esse motivo é indicado o uso de cistografia de contraste duplo<sup>46</sup>. A predição da composição dos urólitos com uso apenas das características radiográficas não é eficiente<sup>47,48,49</sup>.

A ultrassonografia é um método seguro e sensível de detecção dos urólitos, mas não deve ser considerada como um substituto às radiografias e sim como complemento. Deve-se lembrar que os urólitos podem estar localizados em regiões não visualizadas à ultrassonografia devido à sobreposição óssea<sup>46</sup>.

## **2.6. Avaliação da composição dos urólitos**

A realização da análise dos cálculos removidos cirurgicamente é muito importante, pois a identificação da composição química e estrutural dos cálculos urinários é de extrema utilidade para a o conhecimento das causas que levaram à deposição urinária de materiais litogênicos e por permitir a escolha do protocolo correto de manejo do paciente, de modo a evitar as recidivas nos animais<sup>7,18,50</sup> e seres humanos<sup>51,52,53,54,55,56,57,58</sup>. A dificuldade no tratamento da urolitíase muitas vezes resulta da não determinação da composição dos cálculos removidos<sup>49</sup>.

São estabelecidos protocolos médicos e nutricionais para a dissolução de urólitos de estruvita, urato de amônio e cistina, assim como para a minimização da chance de recorrência de todos os urólitos. No entanto, para tratamento de cálculos ativos de oxalato de cálcio, fosfato de cálcio e sílica ou aqueles que obstruem o fluxo urinário, o tratamento médico não produz resultados<sup>4</sup>.

As propriedades mecânicas dos urólitos, como o valor de dureza, dependem da sua composição<sup>59</sup>. Portanto, a resposta à litotripsia também depende dos compostos presentes nos cálculos urinários. Tratamentos por ondas de choque para fragmentar os urólitos, tornando-os passíveis de eliminação, forma de tratamento muito utilizada em pacientes humanos<sup>60</sup>, é menos utilizada nos animais<sup>4</sup>. Cálculos compostos por oxalato de cálcio monohidratado, cistina e brushita possuem densidade maior e fragmentação mais difícil à litotripsia; enquanto que as concreções de estruvita e outras formas de fosfato e o oxalato de cálcio dihidratado se fragmentam facilmente<sup>48,61,62</sup>.

A composição do núcleo pode diferir da composição do restante do cálculo e é muito importante que se determine corretamente a composição nuclear, para que definir a causa que levou ao desenvolvimento da urolitíase<sup>4</sup>.

Variações na composição entre os diferentes cálculos de um mesmo paciente também podem estar presentes, portanto, o ideal é que se analise o maior número possível de cálculos removidos<sup>4,56</sup>.

Diversas técnicas analíticas podem ser utilizadas para a identificação da composição de cálculos urinários<sup>51,56</sup>. As técnicas mais usadas geralmente são classificadas em qualitativas químicas com uso de reagentes químicos, nas quais é apenas detectada a presença dos minerais, ou quantitativas físicas, nas quais os componentes são identificados e quantificados por meio de técnicas físicas de análise<sup>18</sup>.

Existem também técnicas de previsão estimada da composição com uso de informações clínicas do paciente e técnicas auxiliares de imagem. As avaliações quantitativas e qualitativas dos cálculos removidos têm maior valor que avaliações de estimativa<sup>49,63</sup>. Cálculos urinários possuem, muitas vezes, composição complexa e com presença de diferentes tipos minerais, portanto, o uso associado de mais de uma técnica é útil para a correta investigação da composição química dessas concreções<sup>59</sup>.

A análise quantitativa ou qualitativa dos cálculos urinários é um desafio devido ao tamanho diminuto e a fragilidade de muitas amostras<sup>63,64</sup>. Vários métodos analíticos destroem o urólito na fase de preparo da amostra, o que é um fator negativo, já que impede análises posteriores e a manutenção da integridade estrutural é útil para a elucidação da etiologia da urolitíase<sup>64</sup>. Na escolha do método mais adequado de análise dos cálculos, também devem ser levadas em consideração, a possibilidade de ocorrência de heterogenicidade das amostras e o custo-benefício do método<sup>54</sup>. Nenhuma das técnicas é perfeita e todas estão sujeitas a erros, o que reforça a necessidade de associações de técnicas<sup>49,51</sup>.

### 2.6.1. Análises qualitativas químicas por meio de reagentes

As análises qualitativas se baseiam em testes químicos projetados para identificar radicais e íons de uma substância ou mistura. Nesses testes, o urólito é pulverizado, uma alíquota é separada e são adicionados reagentes a essa alíquota. O surgimento de cores diferentes indica a presença de determinados ânions ou cátions. É impossível a identificação de camadas de constituições distintas, diferente do que ocorre nas análises físicas. A avaliação da composição dos urólitos por meio químico de maneira isolada é considerada inadequada, porque a estrutura interna da amostra, não é eficientemente detectada, sendo necessária a realização de análises físicas para completar a identificação<sup>53</sup>. Portanto as análises químicas são menos sensíveis e menos específicas<sup>4</sup>, não determinam as porcentagens dos minerais presentes, além de ser incapazes de detectar a presença de alguns componentes específicos, como a sílica<sup>18</sup>.

### 2.6.2. Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

O uso da espectroscopia de energia dispersiva permite a análise da microestrutura do cálculo, bem como de sua composição química. A técnica detecta a composição a nível elemental da amostra<sup>49,50,59</sup>. Permite a análise qualitativa ou semiquantitativa em porcentagem de quanto cada elemento identificado representa na massa da amostra<sup>49,50</sup>.

Os átomos da superfície da amostra interagem com a emissão de um feixe de partículas carregadas pelo aparelho. Os elétrons de camadas internas dos átomos são excitados e ejetados. Elétrons de camadas mais externas, tendem a preencher o espaço deixado pelos elétrons da camada interna. Quando um elétron de camada externa passa para a camada mais interna, libera energia sob a forma de raios-X, que são captados pelo equipamento. A radiação emitida é característica para cada um dos elementos da amostra<sup>49</sup>. A técnica oferece resultados de forma rápida e simples, entretanto, não pode diferenciar os compostos orgânicos presentes (como urato, cistina, xantina)<sup>49,59</sup>.

O uso da espectroscopia de energia dispersiva é indicado em casos em que há necessidade de detecção diferenciada em cálculos com variação espacial de composição<sup>59</sup>. Essa técnica permite o estabelecimento dos elementos na área examinada com base na presença ou ausência de seus picos característicos no gráfico espectral. A comparação da

intensidade dos picos permite que seja realizada a análise semiquantitativa, baseada na presença do elemento, em comparação com padrões já estabelecidos<sup>49</sup>.

A espectroscopia de energia dispersiva possibilita a avaliação do processo de litogênese por caracterizar bem cada camada do urólito. A repetibilidade da análise não é prejudicada, pois a amostra não é destruída. É apenas seccionada até que se localize o núcleo para que seja realizada a análise nas camadas concêntricas presentes no urólito e a amostra é revestida por um elemento de alta refração, como por exemplo, o ouro ou o carbono. O equipamento que realiza essa análise é acoplado a um microscópio de varredura, o que torna possível a avaliação microscópica das camadas concêntricas de deposição de substâncias litogênicas do urólito. Também são visualizadas falhas e fissuras na estrutura. À análise propriamente dita, elementos como cálcio, magnésio, fósforo, enxofre, nitrogênio, carbono, entre outros, são reconhecidos e o material orgânico é identificado pela presença de elementos de carbono e nitrogênio<sup>49</sup>.

## **2.7. Justificativa**

A urolitíase tem grande importância na rotina da clínica médica e cirúrgica dos cães. A avaliação dos compostos presentes e da estrutura dos cálculos urinários desses animais auxiliam no estabelecimento dos mecanismos patofisiológicos que levaram ao desenvolvimento da enfermidade e são imprescindíveis para estabelecer o tipo de terapia a ser instaurada tanto para o tratamento imediato do problema, como para minimizar as recorrências.

Os fatores envolvidos na ocorrência dos casos de urolitíase em uma determinada população também podem ser elucidados, ao se fazer uma análise epidemiológica da enfermidade.

## **2.8. Objetivos**

Com este estudo objetivou-se realizar a avaliação da composição dos urólitos vesicais de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Goiás e em clínicas veterinárias particulares do município de Goiânia, por meio da associação das técnicas de espectroscopia de energia dispersiva e análise química, para estabelecer quais os

tipos de urólitos mais frequentes na região, a relação entre o tipo de urólitos e as características individuais dos pacientes, para gerar informações que auxiliem no estabelecimento da terapia a ser utilizada. Também se buscou o conhecimento sobre a epidemiologia da urolitíase canina na região.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

Foram colhidos urólitos de cães atendidos em clínicas veterinárias particulares do município de Goiânia e do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ/UFG) entre julho de 2013 e abril de 2014. Os urólitos foram obtidos por meio de procedimento cirúrgico (cistotomia) com objetivo de tratamento da urolitíase e de seus sinais clínicos. Também foram requisitados o histórico clínico do animal, o resultado do exame de urina e cultura de urina, quando realizados. Foram analisadas as composições 55 urólitos, tanto pela técnica de análise química quanto pela análise de EDS.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFG), tendo sido registrado sob o número 028/2013.

#### **3.1. Preparo das amostras para análise química e cobertura com filme de ouro ou carbono**

Primeiramente as amostras foram limpas utilizando-se água destilada para remoção de sangue, urina e quaisquer sujidades que pudessem estar na superfície das mesmas. As amostras foram então lixadas utilizando lixa d'água seca de granulação 1.000 até que se observasse o núcleo. Para isso, à medida que eram lixadas, as amostras eram observadas com o uso de uma lupa. O pó que se desprendeu dessa etapa foi coletado para ser utilizado posteriormente para a análise química. Após se chegar ao núcleo da amostra, utilizou-se lixa d'água de granulação 2.000, com lâmina de água para que fosse realizado o polimento da superfície a ser analisada à microscopia. As amostras foram então armazenadas em recipiente contendo sílica para secagem, de modo que pudessem passar pelo processo de recobrimento com ouro ou carbono.

#### **3.2. Análise química**

Para a análise química, foi utilizado o reagente comercial de análise Cálculo Renal – K008® (Bioclin). O pó proveniente da etapa de lixamento foi utilizado para a análise

química seguindo-se as recomendações do fabricante. O pó foi analisado como um todo, pois não é possível a separação das camadas para a análise química. A análise foi realizada no Laboratório Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal EVZ/UFG.

### **3.3. Cobertura com filme de ouro ou carbono**

Para a deposição de filmes de ouro e carbono, foi utilizado o equipamento Denton Vacuum, Desk V, equipado com o acessório de carbono localizado no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás.

As amostras, após secas, foram cobertas com filme de ouro ou carbono, para que a análise de espectroscopia de energia dispersiva fosse realizada.

Como o pico do ouro à EDS é muito próximo ao do fósforo e este elemento está presente em cálculos de estruvita e fosfato de cálcio, o carbono é preferível ao ouro para realizar o recobrimento das amostras. Por esse motivo, quando o anexo de recobrimento com carbono foi disponibilizado, o recobrimento com esse material passou a ser utilizado em substituição ao ouro.

### **3.4. Microscopia e espectroscopia de energia dispersiva**

Para a análise microscópica e espectroscopia de energia dispersiva, foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura (MEV), Jeol, JSM – 6610, equipado com EDS, *thermo scientific NSS spectral imaging* localizado no Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás.

Após o recobrimento com ouro ou com filme de carbono, as amostras foram analisadas quanto a suas características microscópicas, com uso do microscópio eletrônico de varredura. A EDS foi realizada para avaliação da composição das regiões do urólito. Na região identificada como núcleo, pelo menos três pontos foram analisados quanto a sua composição. Na pedra, foram analisados pelo menos dois pontos em cada uma de três regiões. Finalmente, na parede, dois pontos em cada uma de duas regiões foram analisados.

Na figura 2 estão apresentados gráficos de EDS com urólitos formados pelos compostos encontrados no presente estudo.

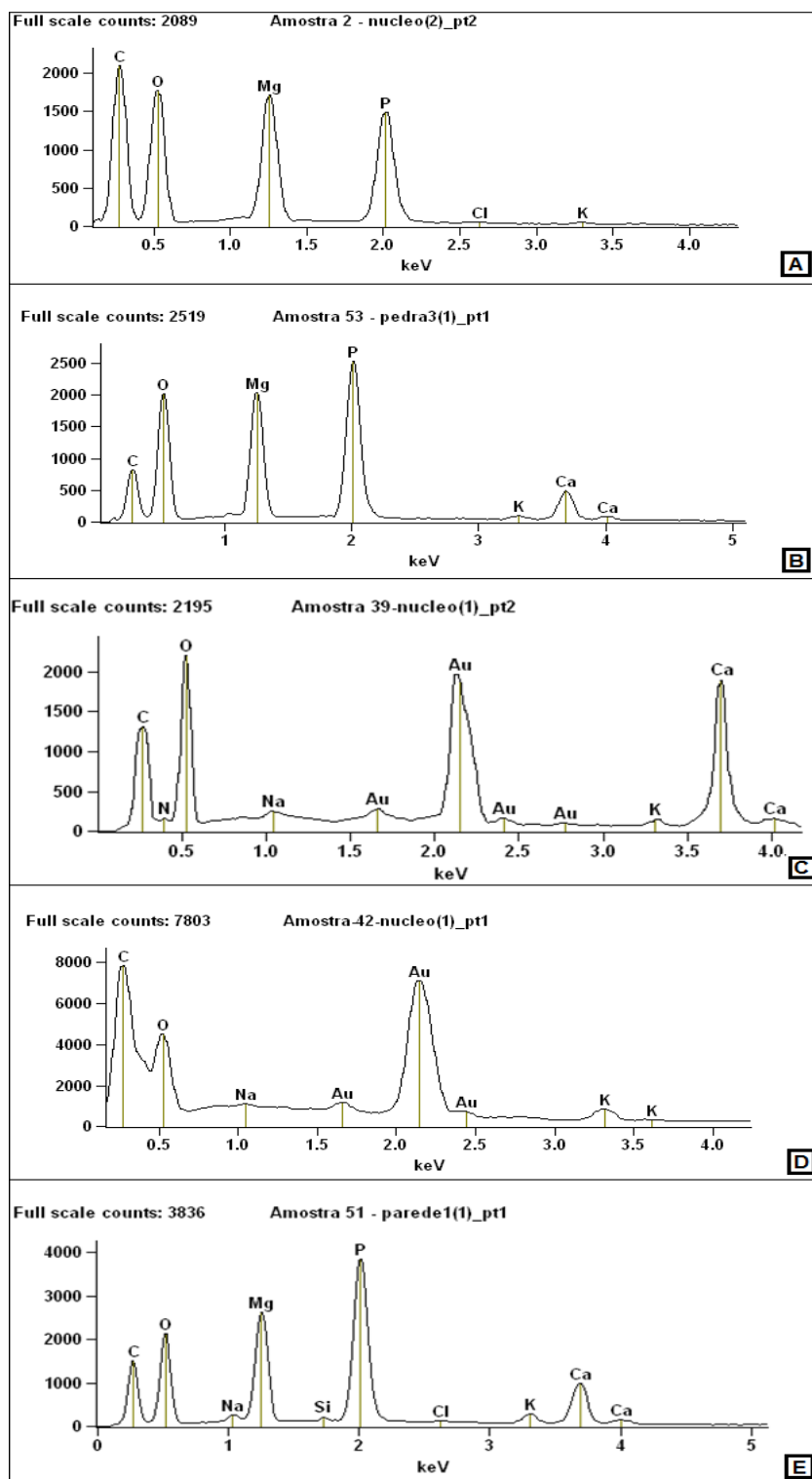


FIGURA 2 - Gráficos de EDS de regiões urólitos caninos com diferentes composições. A: estruvita. B: estruvita e fosfato de cálcio. C: oxalato de cálcio. D: urato. E: estruvita, sílica e fosfato de cálcio

A presença de estruvita, ao EDS foi identificada pela observação de picos de magnésio e fósforo; o oxalato de cálcio foi identificado por meio da presença principalmente do cálcio; o fosfato de cálcio foi observado pela presença de picos de fósforo e cálcio; a sílica

foi caracterizada pela presença de silício e, no caso de compostos orgânicos como os uratos, os picos presentes são apenas aqueles de carbono, nitrogênio e oxigênio e não foi possível identificar a substância orgânica específica pelo EDS. A observação de carbono e oxigênio é normal em todos os urólitos e o nitrogênio também é frequentemente observado, mesmo em urólitos não compostos de material orgânico. Outros elementos como potássio, cloro e sódio também estiveram presentes em alguns cálculos, porém sem qualquer interferência na classificação da composição dos mesmos.

A análise no modo *linescan* (análise da composição ao longo de uma linha, mostrando alterações nas concentrações dos elementos identificados foi realizada sempre que foi possível (quando o tamanho da amostra e a sua conformação de superfície permitiram – excesso de rachaduras impossibilita essa análise). Para o *linescan*, sempre se tomou como ponto de início o núcleo da amostra e como limite final um ponto limítrofe da parede.

Houve um urólito em que a identificação do núcleo, pedra e parede não foi possível. Ele foi então analisado, quanto às zonas observadas à microscopia. As zonas 1, 2, 3 e 4 foram analisadas em duas regiões cada, sendo que cada uma dessas subzonas foi analisada em quatro pontos distintos. A sua zona central teve seis pontos analisados.

### **3.5. Análise estatística**

Foram identificadas as proporções de ocorrência de urolitíase em relação às características dos pacientes como sexo, idade, *status* reprodutivo e presença de infecção urinária. Para confirmar a relação entre presença de estruvita e fosfato de cálcio em um mesmo cálculo, foi utilizado teste exato de Fisher.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 55 urólitos analisados foram retirados da vesícula urinária. Ao EDS, as análises levaram em consideração as distintas regiões do cálculo (núcleo, pedra e parede). A amostra 40 não possuía arquitetura convencional e foi analisada quanto às diferentes zonas observadas ao microscópio eletrônico de varredura (Zonas 1, 2, 3, 4 e central). Na figura 3 estão apresentados um cálculo com arquitetura que permite identificar as regiões clássicas e o cálculo 40, onde não foi possível separar o núcleo, a pedra e a parede, mas haviam quatro zonas distintas.

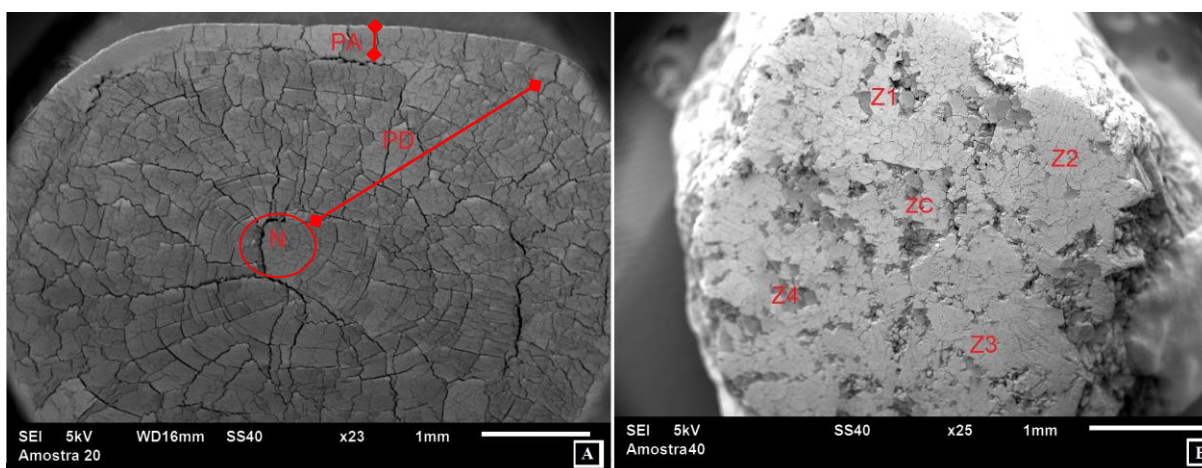


FIGURA 3 - Microscopia eletrônica de urólitos caninos. A: urólito com arquitetura normal, onde podem ser observadas as diferentes regiões (núcleo - N, pedra - PD e parede - PA), bem como os anéis concêntricos de crescimento do urólito. B: Urólito com arquitetura diferenciada, dividida em 4 zonas distintas (Z1, Z2, Z3, Z4) e uma zona central (ZC).

A análise de EDS permite a identificação da presença dos elementos presentes nos cálculos de estruvita, fosfato de cálcio, oxalato de cálcio e sílica. Se houver cálculo com cálcio associado à estruvita, não foi possível a separação entre oxalato ou fosfato de cálcio pela EDS, já que o fósforo, que diferenciaria os dois compostos, encontra-se presente na composição de estruvita. A análise química permite identificar a presença dos seguintes radicais e íons: carbonato, oxalato, cálcio, magnésio, urato, cistina, amônio e fosfato. À análise química, não foi possível a identificação da sílica, isso porque os reagentes químicos presentes não identificam os radicais presentes nos urólitos de sílica. No entanto, a

identificação de compostos orgânicos (urato e cistina) é possibilitada por meio dessa análise. Portanto, a análise das diferentes camadas, bem como a identificação da presença de sílica só foram possíveis graças ao EDS e a identificação de que o composto orgânico que estava presente nas amostras foi o urato, bem como a identificação do composto com cálcio que estava associado à estruvita só foi possível graças à análise química.

#### 4.1. Composição mineral dos urólitos

Dos 55 cálculos urinários caninos analisados por meio de EDS e análise química, 51 (92,8%) apresentavam estruvita, 32 (58,2%) fosfato de cálcio, cinco (9,1%) oxalato de cálcio, cinco (9,1%) sílica e quatro (7,3%) urato em sua composição (Figura 4).

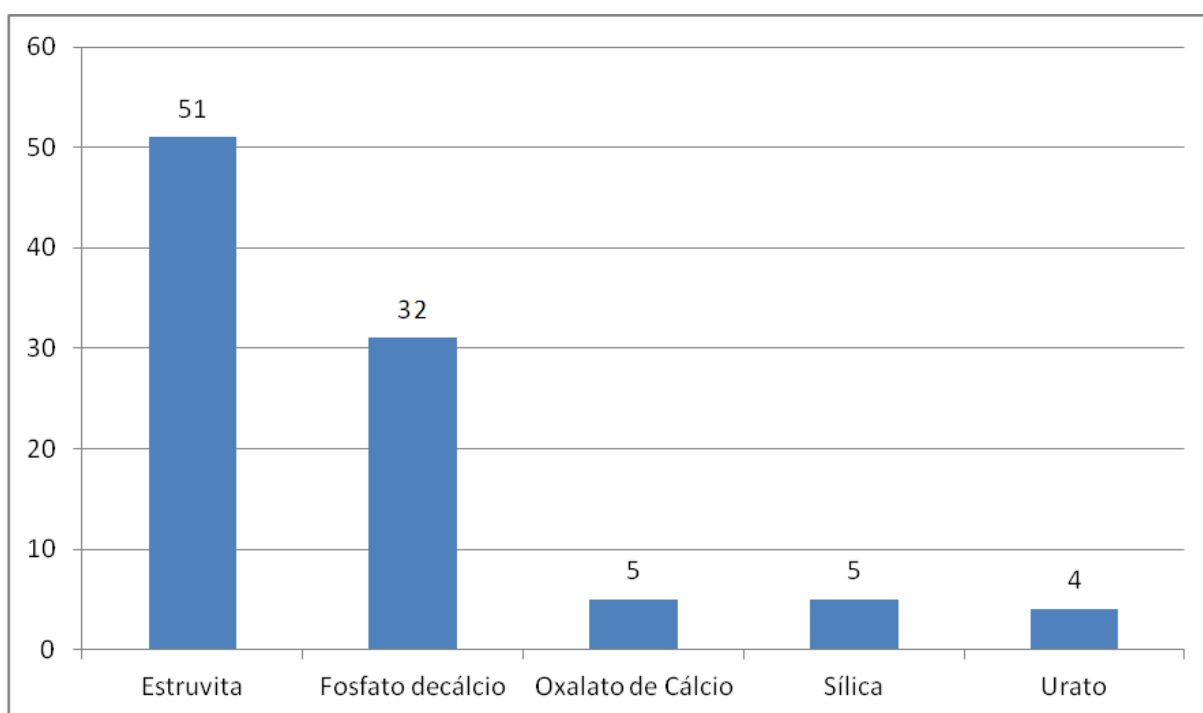


FIGURA 4 – Minerais apresentados em urólitos caninos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Em 19 urólitos (34,5%) foi detectada a presença de apenas um tipo de composto, sendo classificados como simples. Em 36 urólitos (65,5%) foram identificados mais de um composto, sendo classificados como mistos. Em todos os urólitos formados por fosfato de cálcio a estruvita também estava presente.

QUADRO 1 – Composição e frequência de ocorrência dos urólitos simples e mistos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Urólitos simples		Urólitos mistos	
Estruvita	N = 15	Estruvita e fosfato de cálcio	N = 27
Oxalato de cálcio	N = 2	Estruvita, fosfato de cálcio e sílica	N = 4
Urato	N = 2	Estruvita, fosfato de cálcio e urato	N = 1
TOTAL	N = 19	Estruvita e oxalato de cálcio	N = 2
		Estruvita, oxalato de cálcio e sílica	N = 1
		Estruvita e urato	N = 1
		TOTAL	N = 36

Nesse estudo, os urólitos contendo estruvita foram a grande maioria (92,8%), representando uma proporção muito elevada. Embora os urólitos de estruvita sejam historicamente mais frequentes, sua proporção varia entre 32,9%<sup>26</sup>, 38,7%<sup>30</sup>, 43,8%<sup>27</sup> e 49,5% dos casos de urolitíase<sup>28</sup>. Há variações geográficas e temporais importantes relacionadas à proporção dos urólitos de estruvita e dos outros minerais<sup>9,26,27,31,32,38</sup>.

Já o oxalato de cálcio esteve presente em apenas 9,1% dos urólitos, o que também difere em relação ao encontrado na literatura. Os cálculos de oxalato de cálcio são historicamente o segundo tipo de urólito mais frequente e representam porcentagem de 30,7%<sup>28</sup>; 35,9%<sup>30</sup>; 38%<sup>1</sup>; 38,1%<sup>26</sup>; 41,5%<sup>27</sup>.

Não foi realizada, nesse estudo, avaliação em um grande período de tempo, para saber se houve ou está havendo algum tipo de alteração significativa nas proporções dos diferentes tipos de urólito. Segundo a literatura, embora os urólitos de estruvita sejam os mais frequentemente encontrados historicamente<sup>1,11,27,28</sup>, essa realidade tem mudado em diversas regiões, com aumento da ocorrência de urólitos de oxalato de cálcio<sup>9,26,27,28,31,32,38</sup>. Em países como Estados Unidos, Canadá, República Tcheca, Reino Unido, Bélgica, Holanda e Luxemburgo, as proporções de urólitos de estruvita tem caído ao longo dos anos, enquanto aquelas de urólitos de oxalato de cálcio tem aumentado. Essa relação tem tendido a se estabilizar nos últimos anos de forma mais ou menos equivalente para os dois tipos de urólito<sup>1,8,9,28,30,38</sup>. Os motivos para a alteração a longo prazo nas proporções de cálculos de oxalato de cálcio e estruvita ocorrida em diversas regiões do mundo não são totalmente conhecidos, mas fatores relacionados à demografia canina e alterações nutricionais podem ter contribuído para isso. O aumento da acidificação e alterações nos níveis de cálcio, magnésio, oxalato e fósforo das dietas comerciais, o aumento do sedentarismo dos cães e também o aumento na preferência por raças pequenas, mais predispostas aos urólitos por oxalato de

cálcio, são alguns desses fatores<sup>1,31</sup>. Outro ponto a ser considerado é que, como os fatores que combatem a formação dos urólitos de estruvita predispõem a formação de urólitos de oxalato de cálcio, a falta de acompanhamento da eficácia dos protocolos de manutenção por meio de exame de urina e radiografias em animais que anteriormente desenvolveram urólitos de estruvita pode predispô-los aos urólitos de oxalato de cálcio<sup>1</sup>.

Nesse estudo, o fosfato de cálcio foi encontrado em 56,4%, a sílica em 9,1% e o urato em 7,3% dos urólitos. Nota-se que não foram encontrados cálculos formados apenas de fosfato de cálcio ou sílica. Xantina e cistina não foram representadas no estudo. De acordo com a literatura, os cálculos de urato, xantina, cistina, fosfato de cálcio, sílica e aqueles mistos e compostos são menos frequentes e possuem ocorrência bastante variável, de acordo com a localização geográfica<sup>26,27</sup>.

Houveram variações entre as diferentes regiões dos urólitos em 18 casos (Quadro 2), enquanto em 37, a composição foi a mesma nas várias regiões do cálculo. A composição de um mesmo urólito pode variar entre suas diferentes regiões e essa variação é um indicativo das alterações pelas quais a urina passou durante o desenvolvimento do cálculo. Por esse motivo, é importante que se determine a composição de cada região individualmente<sup>4</sup>.

QUADRO 2 – Presença de diferença de composição entre as diferentes regiões dos urólitos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014

Regiões dos urólitos e alterações de composição	N
Núcleo, pedra e parede com composições semelhantes	N = 37
Núcleo com composição diferente, pedra e parede com composições semelhantes	N = 5
Núcleo e pedra com composição semelhantes, parede com composição diferente	N = 9
Núcleo, pedra e parede com composições distintas	N = 4
TOTAL	N = 55

Há diferenças regionais com relação à urolitíase canina e, não se pode esperar que a epidemiologia de uma população de determinada região geográfica se comporte de maneira semelhante às de outras populações. É necessário que se façam, associados a estudos da epidemiologia, pesquisas acerca da popularidade das raças e também de outras características relacionadas à população canina, para que seja evitada a introdução de vieses nesses estudos.

#### 4.2. Relação entre estruvita e fosfato de cálcio

A maior parte dos urólitos compostos e mistos (80%) é formada por estruvita e fosfato de cálcio<sup>27,30</sup> e, a relação próxima entre fosfato de cálcio e estruvita foi observada nesse estudo (Tabela 1), sendo comprovada com resultados significativos. A associação entre esses minerais geralmente está ligada à infecção urinária por bactérias produtoras de urease.

TABELA 1 - Presença dos compósitos estruvita e fosfato de cálcio nos urólitos de cães – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Estruvita	Fosfato de cálcio	
	Não presente	Presente
Não presente	5	0
Presente	19	32

p-valor = 0,0122 no Teste Exato de Fisher

#### 4.3. Frequência da urolitíase segundo o sexo e status reprodutivo

Dos animais acometidos pela enfermidade, 30 (54,5%) eram do sexo feminino e 25 eram do sexo masculino (45,5%). Apenas sete animais eram castrados, sendo quatro fêmeas e três machos.

Também foi observado o sexo dos animais em relação aos compostos encontrados nos urólitos, independentemente da região (Tabela 2).

TABELA 2 - Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compósitos nas diferentes regiões do urólito, pelo sexo do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Sexo	Estruvita	Fosfato de Cálcio	Oxalato de cálcio	Sílica	Urato
<b>Feminino</b>	30 (58,8%)	20 (62,5%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Masculino</b>	21 (41,2%)	12 (37,5%)	5 (100%)	5 (100%)	4 (100%)
<b>Total</b>	51 (100%)	32 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	4 (100%)

O núcleo do cálculo é de extrema importância para determinar as condições que levaram ao surgimento da urolitíase, já que é a primeira região que se forma. Foram estabelecidas as proporções das ocorrências dos compósitos no núcleo dos urólitos com relação ao sexo dos animais (Tabela 3), não sendo observadas grandes alterações em relação à tabela 2.

TABELA 3 – Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compósitos no núcleo, pelo sexo do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Sexo	Estruvita	Fosfato de Cálcio	Oxalato de cálcio	Sílica	Urato
<b>Feminino</b>	29 (58%)	14 (63,6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Masculino</b>	21 (42%)	8 (36,4%)	4 (100%)	3 (100%)	3 (100%)
<b>Total</b>	50 (100%)	22 (100%)	4(100%)	3 (100%)	3 (100%)

O presente estudo mostra uma predominância da urolitíase em fêmeas. Na literatura, há estudos que relatam a predominância de urolitíase em machos<sup>5,11,26,28,30,32</sup>, e há aqueles que relatam a predominância nas fêmeas<sup>27,31</sup>. Há estudos que, além de demonstrar maior ocorrência em machos, também apresentam uma relação machos e fêmeas considerável, variando de 1,4:1<sup>26</sup> a 1,6:1<sup>30</sup> e mostrando que a proporção de cães do sexo masculino afetados pela urolitíase pode chegar a mais de 60%<sup>5</sup>.

A predominância da urolitíase nas fêmeas, como observado neste estudo, está ligada a uma alta ocorrência de urólitos de estruvita<sup>31</sup>. As fêmeas têm predisposição maior que os machos a esse tipo de urolitíase devido a uma maior ocorrência de infecções urinárias em animais desse sexo devido a características morfológicas. A presença de bactérias produtoras de urease é o principal fator ocasionador de urolitíase por estruvita em animais da espécie canina<sup>4,7,29</sup>. O sexo é um fator que sabidamente influencia na composição dos urólitos. Os cálculos de estruvita são mais frequentes nas fêmeas e aqueles formados de oxalato de cálcio, cistina e urato são mais frequentemente observados em machos<sup>26,28</sup>. As fêmeas podem representar 63,6% dos animais acometidos por urólitos de estruvita<sup>30</sup> e a relação entre fêmeas e machos pode ser bastante variável, chegando de 1,7:1<sup>26</sup> até 12:1<sup>27</sup>.

Os urólitos que continham oxalato de cálcio foram todos provenientes de animais do sexo masculino. Está estabelecido na literatura que os machos, desenvolvem mais urólitos de oxalato de cálcio, se comparados às fêmeas<sup>26,28,30</sup>. A relação entre machos e fêmeas pode ser de 3:1<sup>26</sup> ou até mesmo de 5:1<sup>30</sup>, com animais do sexo masculino chegando a representar 85,4% daqueles que desenvolveram urólitos de oxalato<sup>28</sup>.

#### 4.4. Frequência da urolitíase segundo a idade

A idade dos cães afetados pela urolitíase variou de 18 a 120 meses. A idade média

foi de 68,9 meses ou 5,7 anos. Desses animais, seis (10,9%) possuíam até 36 meses de idade, 29 (52,7%) possuíam idade entre 36 e 72 meses e 20 (36,4%), possuíam mais de 72 meses de idade. Diferenças na idade dos cães com urolitíase também são relatadas na literatura indo desde alguns meses até 17<sup>26</sup>, 19<sup>11</sup> ou 20 anos<sup>30</sup>. A idade média da urolitíase em cães variou de 5 anos<sup>5</sup>, 6,5 anos<sup>30</sup>, 6,7 anos<sup>31</sup>, a 7,6 anos<sup>26</sup>.

As idades dos animais acometidos por urolitíase em relação aos compostos encontrados nas várias camadas dos urólitos também foi analisada e os resultados estão apresentados na tabela 4.

TABELA 4 – Valores absolutos e em porcentagem das observações dos compostos pelo intervalo de idade do cão – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Idade	Estruvita (%)	Fosfato de Cálcio (%)	Oxalato de Cálcio (%)	Sílica (%)	Urato (%)
Até 36 meses	4 (7,8%)	1 (3,1%)	1 (20,0%)	1 (20,0%)	3 (75,0%)
>36 e a 72 meses	28 (54,9%)	19 (59,4%)	1 (20,0%)	3 (60,0%)	1 (25,0%)
>72 meses	19 (37,3%)	12 (37,5%)	3 (60,0%)	1 (20,0%)	0 (0,0%)
Total	51 (100%)	32 (100%)	5 (100%)	5 (100%)	4 (100%)

A idade dos cães que apresentam urolitíase pode ter relação com a composição dos urólitos (Figura 5).

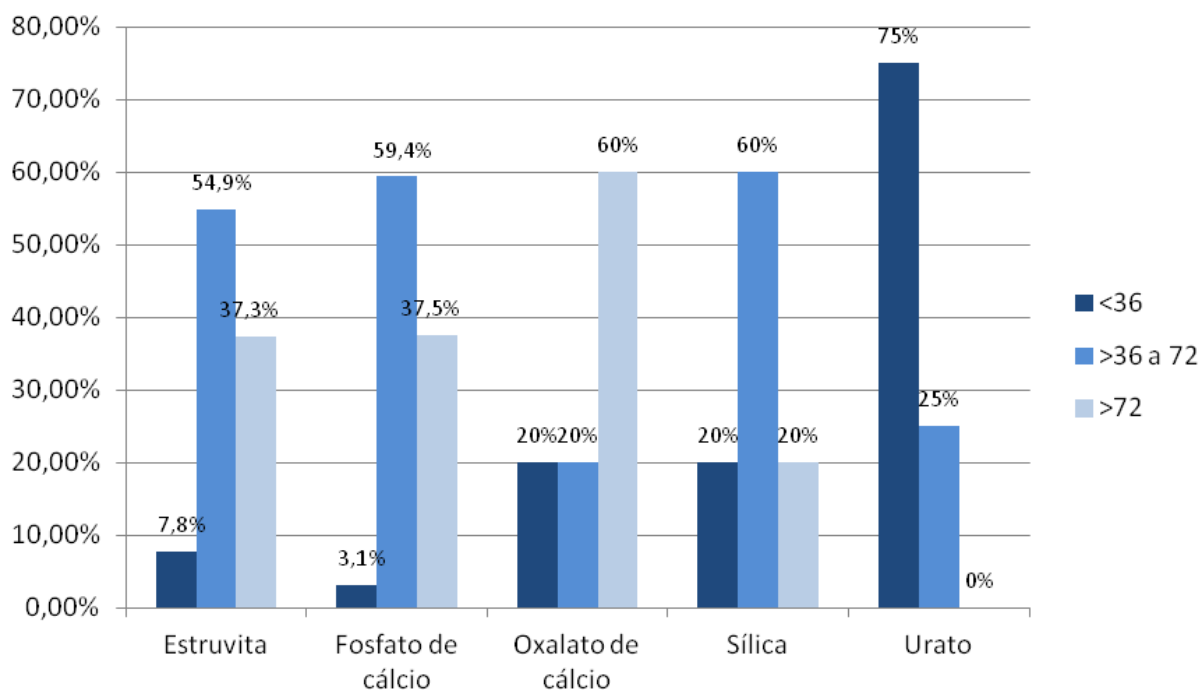


FIGURA 5 - Gráfico da proporção dos minerais nos urólitos dos cães pela idade – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

No presente estudo, os animais que apresentaram urólitos de estruvita possuíam idade média de 70,3 meses (5,9 anos), o que está de acordo com a literatura, onde a idade média de ocorrência desse tipo de urólitos é de 4<sup>9</sup> a 6,7 anos<sup>26,31</sup>. A idade média de fêmeas com cálculos de estruvita é de 5,7 anos e em machos, a idade média é de 6 anos<sup>27</sup>.

A formação dos cálculos de oxalato de cálcio aumenta com a idade, enquanto que a formação dos cálculos de cistina e urato diminui<sup>28</sup>. Neste estudo os cães que apresentaram urólitos com oxalato de cálcio em sua composição apresentaram idade média superior à daqueles com estruvita em sua composição, o que é corroborado pela literatura<sup>11,27,28</sup>. No entanto, a idade média apresentada (76,8 meses – 6,4 anos) é menor que as idades médias apresentadas na literatura, que apresenta valores próximos a 9 anos<sup>26,31</sup>. A idade média encontrada no presente estudo permanece, porém, dentro do intervalo tido como normal para apresentação desse tipo de urólitos, que varia geralmente ocorre em animais entre 5 e 11 anos<sup>9</sup>.

Os machos possuem uma idade média de formação de urólitos mais elevada (7,1 anos) que as fêmeas (6,6 anos). Isso devido ao fato de que normalmente os machos desenvolvem mais cálculos de oxalato de cálcio, que se formam em uma idade mais avançada que os de estruvita, mais desenvolvidos pelas fêmeas<sup>30</sup>. No entanto, no presente estudo, a idade média das fêmeas com urolitíase foi de 69,8 meses (5,8 anos), enquanto dos machos foi de 67,8 meses (5,6 anos). Como a maioria dos cálculos desenvolvidos pelos machos também possuía estruvita e os cálculos de oxalato de cálcio foram raros, isso pode explicar uma média de idade mais baixa que o demonstrado pela literatura.

A idade média de desenvolvimento de urólitos de urato pelos Dálmatas gira em torno de 5,7 anos<sup>30</sup>. Nesse estudo houve apenas um Dálmata formador de cálculo de urato, que possuía 20 meses (1,7 ano).

#### **4.5. Frequência da urolitíase segundo a raça**

No presente estudo os cálculos urinários analisados foram oriundos de 14 raças diferentes, a maioria de pequeno porte, além de animais sem raça definida (SRD). Os animais de raça foram maioria, totalizando 37 (67,3%), enquanto aqueles SRD totalizaram 18 (32,7%) animais (Figura 6).

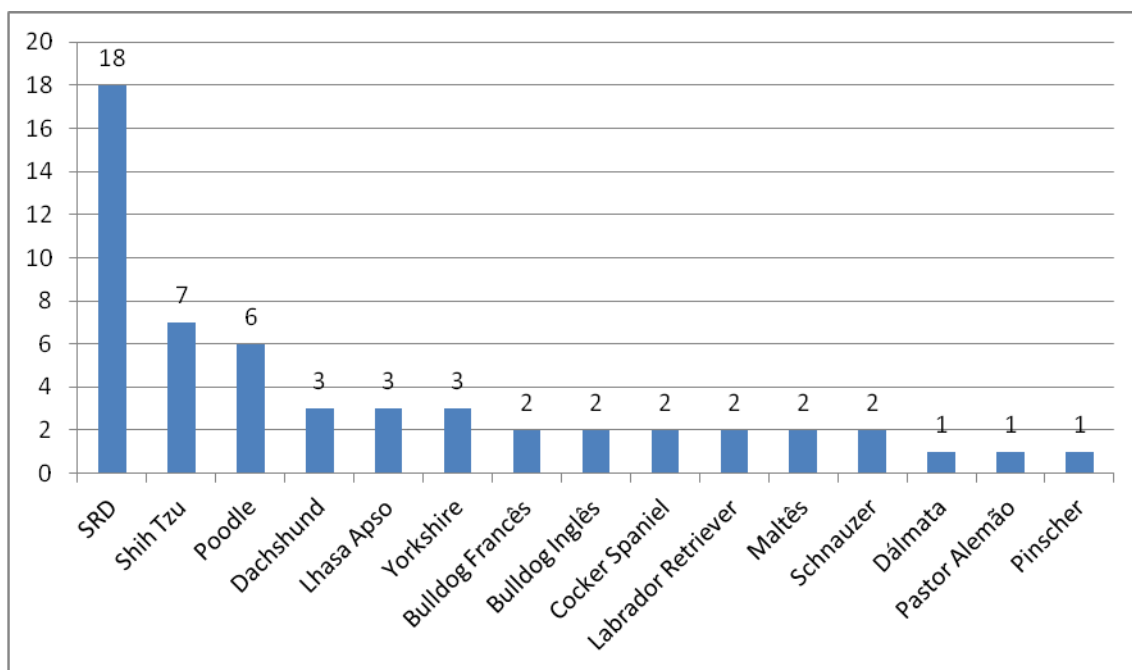


FIGURA 6 - Número absoluto das raças dos animais que apresentaram urolitíase – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Assim como ocorreu nesse estudo, a maioria dos casos de urolitíase ocorre em cães de raça<sup>5,8,28,32</sup>, sendo que diversas raças podem ser acometidas<sup>5</sup>. Os cães sem raça definida representam 15,1% do total de animais com urolitíase<sup>30</sup>. Nesse estudo, os animais sem raça definida representaram um percentual mais elevado, de 32,7% das urolitíases, mas isso pode ser reflexo da característica populacional local.

A maioria dos animais (72,7%) que apresentaram o problema era de porte pequeno, inclusive grande parte dos animais sem raça definida. A maior parte dos urólitos caninos é diagnosticada em cães de raças pequenas<sup>8,9,32</sup> e isso pode estar associado ao padrão de vida desses animais, que possuem um contato mais direto com seus proprietários, que percebem mais facilmente os sinais clínicos, procurando o auxílio veterinário<sup>9</sup>.

As raças mais comumente afetadas variam entre os diferentes países e regiões<sup>30</sup> e, relatos da prevalência da urolitíase sobre determinadas raças devem ser realizados levando em conta a representatividade das raças na população estudada<sup>5,30</sup>. Os diversos estudos que relatam ocorrência de urolitíase não consideram a popularidade das raças. Em relato na República Tcheca as raças mais afetadas pela urolitíase foram: Dachshund, Dálmata, Cocker Spaniel, Poodle, Yorkshire Terrier, Shih Tzu e Pequês. Na Bélgica, Holanda, e Luxemburgo, as raças mais afetadas foram Bichon Frisé, Schnauzer, Shih Tzu, Dálmata, Yorkshire Terrier e Poodle<sup>8</sup>. Em estudo realizado em 2012, no Brasil, Estado de São Paulo, as raças mais acometidas foram Pastor Alemão, Poodle, Dálmata, Yorkshire Terrier e Boxer<sup>5</sup>.

A raça do animal acometido também influencia na composição específica do urólito. O conhecimento de quais raças tem maior predisposição de desenvolver determinados tipos de urólitos é importante e, para isso, também é necessário que se faça o estudo epidemiológico de urolitíase associado a dados de popularidade das raças no local avaliado<sup>28</sup>. Urolitíase por oxalato de cálcio está muito associada a raças pequenas<sup>31</sup>.

Nesse estudo, os cães que mais apresentaram urólitos com estruvita foram os sem raça definida, das raças Shih Tzu e Poodle. Raças com muitos relatos de cálculo por estruvita incluem Labrador Retriever<sup>31</sup>; Shih Tzu, Bichon Frisé, Schnauzer Miniatura, Lhasa Apso e Yorkshire Terrier<sup>8,27</sup>; Dachshund, Cocker Spaniels, Cocker Spaniel, Schnauzer Miniatura Yorkshire Terrier<sup>30</sup> e animais sem raça definida (risco três vezes maior de desenvolver urólitos de estruvita que de oxalato de cálcio)<sup>26,30</sup>. A raça Shih Tzu apresenta maior predisposição aos urólitos de estruvita, chegando a representar 74% dos urólitos<sup>8</sup>.

Cinco animais apresentaram urólitos contendo oxalato de cálcio em sua composição. As raças desses animais foram Shih-Tzu, Pastor Alemão e Lhasa Apso. Raças com alto desenvolvimento de cálculos de oxalato de cálcio incluem o Yorkshire Terrier<sup>2,8,13,26,28,30</sup>, Schnauzer<sup>2,13,26,30</sup>, Shih Tzu<sup>2,13,26</sup>, Lhasa Apso<sup>2,13,26</sup>, Poodle<sup>26,28,30</sup>, Bichon Frisé<sup>2,13</sup>, Chihuahua<sup>28</sup> e cães sem raça definida<sup>30</sup>. A raça Yorkshire Terrier é a que apresenta maior predisposição aos urólitos de oxalato de cálcio, de modo que 69% dos urólitos desenvolvidos na raça são de oxalato de cálcio<sup>8</sup>.

Quatro animais apresentaram urólitos contendo urato em sua composição, sendo dois desses formados unicamente de urato. Um dos urólitos contendo unicamente urato se desenvolveu em um animal da raça Dálmata e o outro em um animal da raça Bulldog Inglês. Os dois urólitos que continham urato em sua composição, além de outros compostos se desenvolveram em animais das raças Bulldog Inglês e Yorkshire Terrier. Segundo a literatura, o urólito mais comumente encontrado em cães da raça Dálmata são os de urato<sup>8,18,28,30</sup>, chegando a compor de 82%<sup>8</sup> a 96% dos cálculos<sup>18</sup> dos animais dessa raça. As raças Bulldog Inglês e Yorkshire Terrier também possuem uma alta taxa de formação de urólitos de urato<sup>26,30</sup>.

Animais que desenvolveram urólitos contendo sílica em sua composição pertenciam às raças Labrador Retriever, Pastor Alemão, Poodle e também animais SRD. A raça que mais frequentemente desenvolve urólitos de sílica é a Pastor Alemão<sup>26</sup>.

#### 4.6. Sinais clínicos e cristalúria

Os sinais clínicos relatados aos médicos veterinários em cada caso foram também associados aos casos de urolitíase. Os sinais clínicos específicos de afecção presente no trato urinário, mas não exclusivos de urolitíase, apresentados pelos cães deste estudo foram a hematúria em 25 casos (45,5%), disúria em 14 (25,5%), polaciúria em 12 (21,8%) e estrangúria em 4 (7,3%). Sinais sistêmicos consistiram de anorexia, presente em 3 pacientes (5,5%) e letargia em 2 (3,6%). Nove cães (16,4%) apresentavam-se assintomáticos (Figura 7) e, nesse caso, o diagnóstico da urolitíase foi acidental.

Os sinais mais comumente apresentados pelos animais afetados incluem hematúria, polaciúria, estrangúria, disúria e incontinência urinária<sup>5,11,29</sup>, no entanto, os urólitos podem persistir no trato urinário por longos períodos sem causar qualquer tipo de sinais clínicos e casos de animais assintomáticos não são incomuns<sup>4</sup>. Os sinais clínicos estão presentes em apenas um terço dos casos<sup>5</sup>. Nesse estudo, os sinais ocorreram em 83,6% dos casos. O alto número de animais sintomáticos provavelmente decorre de baixa eficiência de diagnóstico em animais assintomáticos, pela deficiência em investigação preventiva e em acompanhamento de rotina.

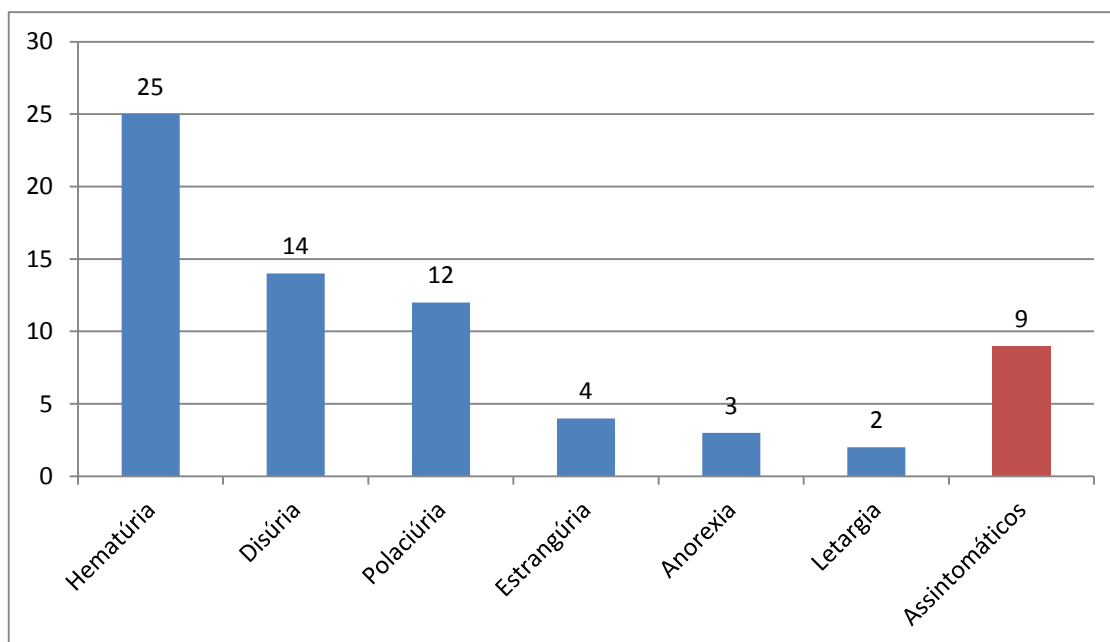


FIGURA 7 - Sinais clínicos apresentados por cães acometidos por urolitíase – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

O exame de urina foi realizado em 36 (65,5%) dos pacientes de urolitíase anteriormente à remoção cirúrgica. Das urinas analisadas, a cristalúria estava presente em apenas 29,7% (11) dos casos. A cristalúria pode estar ausente em animais com urolitíases e presente em animais saudáveis. Além desse fato, cristais podem se desenvolver na urina *in vitro* se a análise não for realizada rapidamente; especialmente se a amostra foi refrigerada<sup>46</sup>.

#### 4.7 Presença de bacteriúria

Presença de bactéria na urina ocorreu em 75% dos 36 casos nos quais foram realizados os exames de urina. Infelizmente, a cultura de urina foi realizada somente em dois pacientes.

Na Figura 8, pode ser observada a frequência absoluta da presença de bacteriúria indicada pelo exame de urina em relação aos minerais encontrados nos urólitos. Pode-se observar que em 26 (76,5%) dos casos de urólitos contendo estruvita, a bacteriúria estava presente.

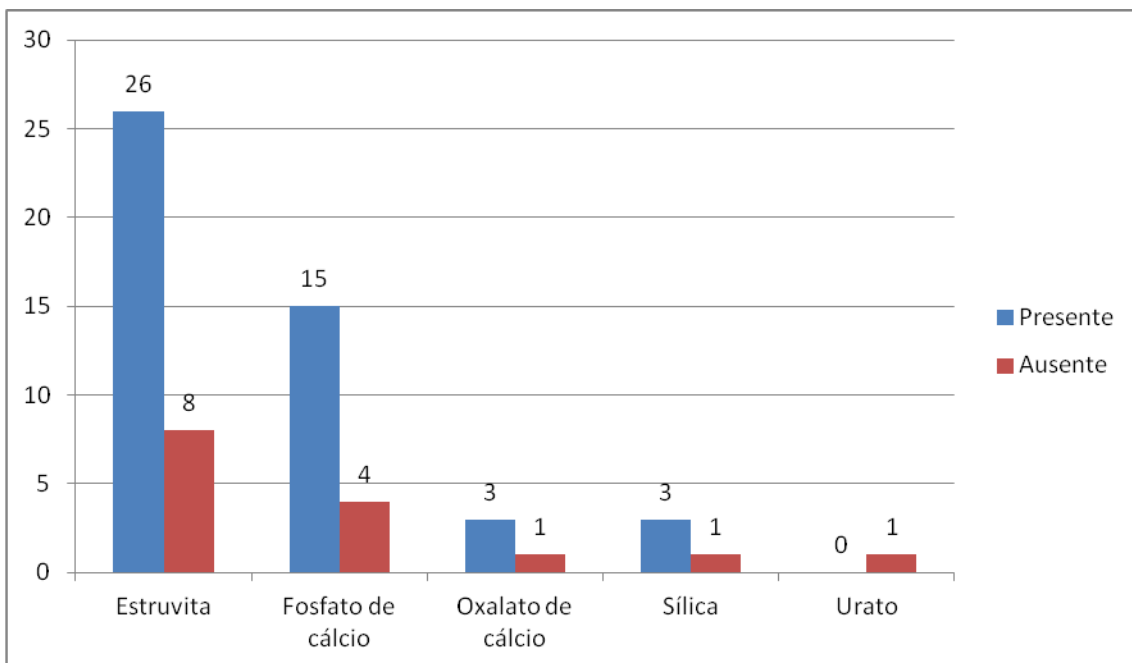


FIGURA 8 - Presença de bacteriúria em relação aos compostos presentes nos urólitos – Goiânia, julho de 2013 a abril de 2014.

Urólitos de estruvita e fosfato de cálcio estão intimamente ligados à presença de infecção por bactérias produtoras de urease. Deve-se levar em consideração, no entanto, que a

presença de bactérias no exame de urina pode ser reflexo do tipo de colheita que foi realizado<sup>4</sup>. Dados relativos ao modo de colheita da urina dos cães deste estudo não foram disponibilizados.

#### 4.8. Comparação entre análise química e EDS

A análise química não permitiu a avaliação dos cálculos com relação às suas diferentes regiões, pois para a realização desse tipo de análise, o cálculo deve ser pulverizado e todo o pó é analisado em conjunto, sem distinção de regiões. Nessa análise, foi notada apenas a presença dos radicais e íons identificados pelo reagente comercial. Também não foi observada a presença de sílica em nenhum dos urólitos com a análise química, já que não existe reagente para identificar esse composto<sup>18</sup>. Outra desvantagem dessa técnica é a destruição da amostra, impossibilitando que se faça uma nova análise.

O EDS permitiu a análise de áreas distintas das regiões dos cálculos urinários. Dos 55 urólitos analisados, 13 (23,6%) apresentaram diferenças de composição entre as suas regiões. Essa técnica, além de permitir a avaliação da composição de cada região do urólito de maneira distinta, possibilitou a observação da estrutura microscópica do urólito. Isso pelo fato de o detector de EDS estar conectado a um microscópio eletrônico de varredura. Dessa forma, informações importantes com relação ao processo de desenvolvimento do urólito como um todo podem ser obtidas. Sempre que foi observada alguma região de aparência diferenciada à microscopia, ela também foi analisada por EDS. Outra vantagem do EDS é a possibilidade de fazer análise modo *linescan*, permitindo obter informações sobre a variação da presença dos vários elementos ao longo de uma linha (Figura 9), o que possibilita identificar as alterações nas proporções dos elementos identificados.

Portanto, a análise de EDS não leva à destruição da amostra e permite que sejam feitas novas análises posteriores, se necessário. Adicionalmente, se o armazenamento da amostra, após a análise for feito de maneira correta, de modo a proteger a mesma do ambiente, não será necessário novo processo de cobertura com filme de carbono ou ouro<sup>49,50</sup>.

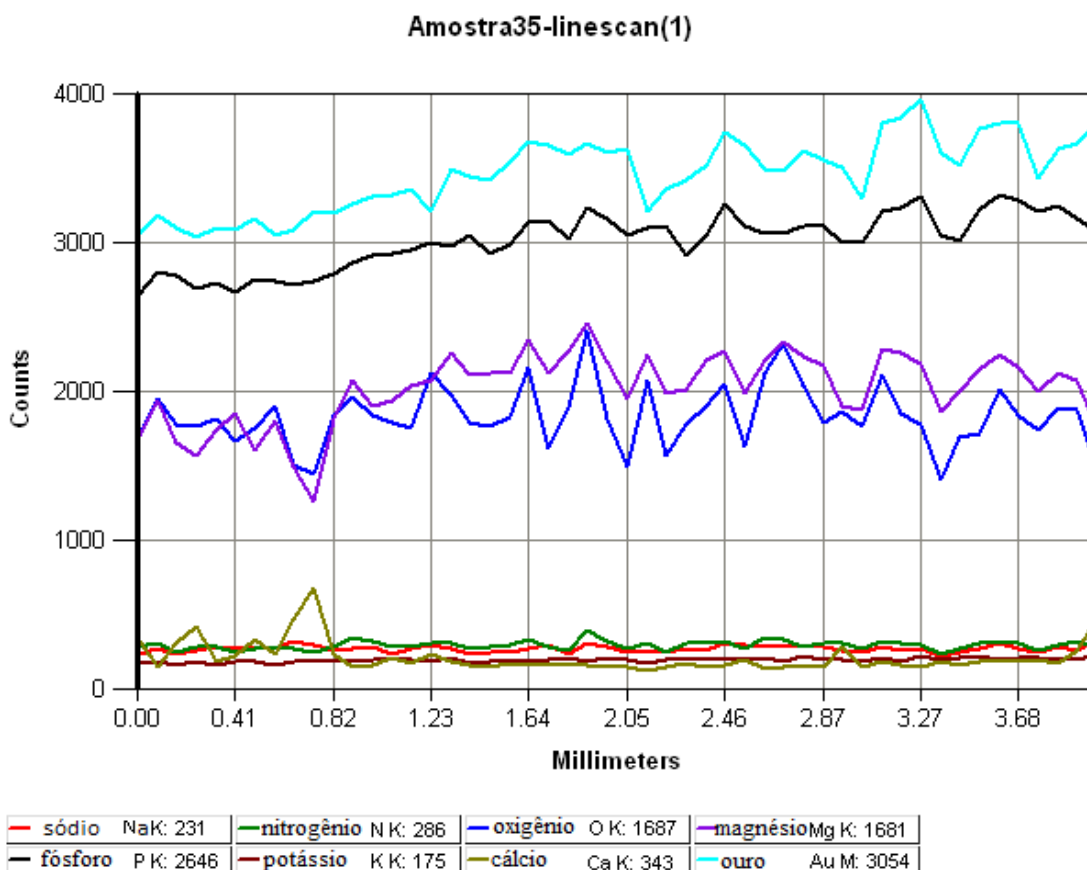


FIGURA 9 - EDS no modo *linescan* de urólito canino composto de magnésio e fosfato de cálcio. Nota-se aumento de cálcio quando há diminuição de magnésio, mas não de fósforo, indicando que na região com maior concentração de fosfato de cálcio, houve redução da concentração de estruvita. No entanto, ambos os compostos estavam presentes em todo o urólito.

No caso dos compostos orgânicos, o EDS não permitiu a identificação de qual substância estava presente e, nos quatro urólitos (7,3%) em que foi observada presença de composto orgânico, a identificação ocorreu somente com a análise química. Outro viés da análise por EDS ocorre quando a estruvita está associada a algum composto formado de cálcio (fosfato ou oxalato), pois como a estruvita possui fósforo em sua composição, usando apenas a análise qualitativa do EDS, é difícil identificar se o composto presente é fosfato ou oxalato de cálcio. Sendo assim, a presença do oxalato nesses urólitos só pode ser confirmada ou rejeitada por meio da análise química. A literatura relata que, geralmente, o EDS é utilizado em conjunto com outra técnica quantitativa de análise física, para que haja uma otimização do resultado<sup>49,55</sup>.

A informação de quais minerais estão presentes em cada urólito, associada à investigação clínica, permite que o médico veterinário elabore a terapia de manutenção e de prevenção para futuros casos de urolitíase. É sempre recomendado que seja realizada a investigação da composição dos urólitos removidos ou expelidos. Muitas vezes, a composição

encontrada é diferente da que foi esperada, ao se levar em consideração dados individuais do paciente, como raça, sexo, idade e características do exame de urina. Também é preferível a escolha de uma técnica que permita a investigação em separado das diferentes zonas ou regiões dos cálculos.

A análise química não fornece muitas das informações obtidas por meio do uso da técnica de EDS e não é recomendado que o clínico se baseie apenas nessa metodologia para estabelecer o protocolo de tratamento. A técnica de EDS permite uma melhor compreensão dos fatores envolvidos no processo e desenvolvimento do urólito, sendo muito útil na investigação dos fatores que iniciaram e mantiveram o desenvolvimento dos urólitos. No entanto, essa técnica também possui alguns vieses, principalmente em relação à identificação de compostos orgânicos.

## 5. CONCLUSÃO

Os urólitos dos cães no Município de Goiânia são compostos, em sua maioria, por estruvita e a combinação de estruvita com fosfato de cálcio foi a mais comumente encontrada.

Foram estabelecidas as composições de urólitos vesicais caninos cirurgicamente removidos. Dos 55 urólitos analisados, a estruvita estava presente em 51, o fosfato de cálcio em 32, o oxalato de cálcio em cinco, a sílica também em cinco e o urato em quatro. Os urólitos classificados como simples foram 19 e aqueles classificados como mistos, em que havia a presença de mais de um composto, foram 36.

Ambos os sexos apresentaram urolitíase, com frequência ligeiramente maior em fêmeas. As idades variam entre 18 e 120 meses, sendo a faixa entre 36 e 72 meses a mais afetada. Cães de 14 raças e sem raça definida foram acometidos e grande parte deles é de pequeno porte. As duas raças mais afetadas foram Shih Tzu e Poodle, mas não foi considerada a popularidade das raças. Os sinais clínicos descritos não são específicos da urolitíase e o mais comumente relatado foi a hematúria. A cristalúria não foi um achado laboratorial consistente, ocorrendo em menos da metade dos pacientes.

A associação da técnica de EDS à análise química mostrou-se adequada para a identificação dos minerais presentes na composição dos cálculos urinários.

## REFERÊNCIAS

- 1 Osborne CA, Lulich JP, Kruger JM, Ulrich LK, Koehler LA. Analysis of 451,891 canine uroliths, feline uroliths, and feline urethral plugs from 1981 to 2007: Perspectives from the Minnesota Urolith Center. *Vet Clin Small Anim.* 2008; 39 (1): 183-97.
- 2 Adams LG.; Syme HM. Canine lower Urinary Tract Diseases. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Textbook of veterinary internal medicine.* 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005. p. 1850-1874.
- 3 Lulich JP, Osborne CA, Bartges JW, Lekcharoensuk C. Distúrbios do trato urinário inferior dos caninos. In: Ettinger SJ, Feldman EC. *Tratado de medicina interna veterinária.* 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, p. 1841-1877.
- 4 Osborne CA, Lulich JP, Bartges JW, Unger LK, Thumchai R, Koehler LA, Bird KA, Felice LJ. Canine and feline urolithiasis: relationship of etiopathogenesis to treatment and prevention. In: Osborne CA, Finco DR. *Canine and feline nephrology and urology* Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. p. 798-888.
- 5 Inkelmann MA, Kommers GD, Trost ME, Barros CSL, Figuera RA, Irigoyen LF, Silveira IP. Urolitíase em 76 cães. *Pesq Vet Bras.* 2012; 32 (3): 247-53.
- 6 Osborne CA, Lulich JP, Polzin DJ, Sanderson SL, Koehler LA, Ulrich LK, Bird KA, Swanson LL, Pederson LA, Sudo SZ. Analysis of 77.000 canine uroliths. Perspective from the Minnesota Urolith Center. *Vet Clin N Am-Small.* 1999; 28 (1): 17-38.
- 7 Ulrich LK, Osborne CA, Cokley A, Lulich JP. Changing paradigms in the frequency and management of canine compound uroliths. *Vet Clin Small Anim.* 2008; 39 (1): 41-53.
- 8 Picavet P, Detilleux J, Verschuren S, Sparkes A, Lulich J, Osborne C, Istasse L, Diez M. Analysis of 4495 canine and feline uroliths in the Benelux. A retrospective study: 1994-2004. *J Anim Physiol An N.* 2007; 91 (6): 247-51.

- 9 Rogers KD, Jones BN, Roberts L, Rich M, Montalto N, Beckett S. Composition of uroliths in small domestic animals in the United Kingdom. *Vet J.* 2011; 188 (2): 228-30.
- 10 Grauer GF. Canine urolithiasis. In: Nelson RW, Couto CG. *Small animal internal medicine.* 4th ed. Saint Louis: Mosby, 2003. P. 631-41.
- 11 Oyafuso MK, Kogika MM, Waki MF, Prosses CS, Cavalcante CZ, Wirthl VABF. Urolitíase em cães: avaliação quantitativa da composição mineral de 156 urólitos. *Cienc Rural.* 2010; 40 (1): 102-8.
- 12 Wisener LV, Pearl DL, Houston DM, Reid-Smith RJ, Moore AEP. Spatial and temporal clustering of calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate uroliths in dogs living in Ontario, Canada between 1998 and 2006. *Prev Vet Med.* 2010; 95 (2): 144-51.
- 13 Lulich JP, Osborne CA, Albasan H, Koehler LA, Ulrich LM, Lekcharoensuk C. Recent shifts in the global proportions of canine uroliths. *Vet Rec.* 2013; 172: 363.
- 14 Ryall RL, Marshall VR. The relationship between urinary inhibitory activity and endogenous concentrations of glycosaminoglycans and uric acid: comparison of urines from stone-formers and normal subjects. *Clin Chim Acta.* 1984; 141 (2): 197-204.
15. Carvalho M, Lulich JP, Osborne A, Nakagawa Y. Role of urinary inhibitors of crystallization in uric acid nephrolithiasis: Dalmatian dog model. *Urology.* 2003; 62 (3): 566-70.
16. Godoi DA, Regazoli E, Beloni SE, Zanutto MS. Physicochemical aspects of urolithiasis in dogs in Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2011; 63 (4): 881-6.
- 17 Robinson MR, Norris RD, Sur RL, Preminger GL. Urolithiasis: not just a 2-legged animal disease. *J Urol.* 2008; 179 (1): 46-52.
- 18 Koehler LA, Osborne CA, Buettner MT, Lulich, JP, Behnke R. Canine urolithiasis: Frequently asked questions and their answers. *Vet Clin Small Anim.* 2008; 39 (1): 161-81.

19. Finlayson B. Physicochemical aspects of urolithiasis. *Kidney Int.* 1978; 13 (4): 344-60.
20. Nakagawa Y, Abram V, Parks JH, Lau SH, Kawooya JK, Coe FL. Urine glycoprotein crystal growth inhibitors: Evidence for a molecular abnormality in calcium oxalate nephrolithiasis. *J Clin Invest.* 1985; 76 (4): 1455-62.
21. Ulrich LK, Bird KA, Koehler LA, Swanson L. Urolith analysis: submission, methods and interpretation. *Vet Clin N Am-Small.* 1996; 26 (2): 393-400.
22. Zerwekh JE, Holt K, Pak CYC. Natural urinary macromolecular inhibitors: Attenuation of inhibitory activity by urate salts. *Kidney Int.* 1982; 23 (6): 838-41.
23. Kalaiselvi P, Udayapriya KL, Selvam R. Uric acid-binding proteins in calcium oxalate stone formers and their effect on calcium oxalate crystallization. *BJU Int.* 1999; 83 (9): 919-23.
24. Porile JL, Asplin FR, Parks JH, Nakagawa Y, Coe FL. Normal calcium oxalate crystal growth inhibition in severe calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 7 (4): 602-6.
25. Tsogas GZ, Giokas DL, Vlessidis AG. A fast assay of water hardness ions based on alkaline earth metal induced coacervation (HALC). *Talanta.* 2010; 80 (5): 2049-56.
26. Vrabelova D, Silvestrini P, Ciudad J, Gimenez JC, Ballesteros M, Puig P, Copegui RR. Analysis of 2735 canine uroliths in Spain and Portugal. A retrospective study: 2004-2006. *Res Vet Sci.* 2011; 91 (2): 208-11.
27. Houston DM, Moore AEP, Favrin MG, Hoff B. Canine urolithiasis: a look over 16000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Centre from February 1998 to April 2003. *Can Vet J.* 2004; 45 (3): 225-30.
28. Roe K, Pratt A, Lulich J, Osborne C, Syme HM.. Analysis of 14,008 uroliths from dogs in the UK over a 10-year period. *J Small Anim Pract.* 2012; 53 (11): 634-40.

- 29 Osborne CA, Lulich, JP, Forrester D, Albasan H. Paradigm changes in the role of nutrition for the management of canine and feline urolithiasis. *Vet Clin Small Anim.* 2008; 39 (1): 127-41.
- 30 Sosnar M, Bulkova T, Ruzicka M. Epidemiology of canine urolithiasis in the Czech Republic from 1997 to 2002. *J Small Anim Pract.* 2005; 46 (4): 177-84.
- 31 Ling GV, Thurmond MC, Choi, YK, Franti CE, Ruby AL, Johson DL. Changes in proportion of canine urinary calculi composed of calcium oxalate or struvite in specimens analysed from 1981 through 2001. *J Vet Intern Med.* 2003; 17 (6): 817-23.
- 32 Angel-Caraza J, Diez-Prieto J, Pérez-García CC, García-Rodríguez MB. Composition of lower urinary stones in canines in Mexico City. *Urol Res.* 2010; 38 (3): 201-4.
- 33 Nakagawa Y, Abram V, Kézdy FJ, Kaiser ET, Coe FL. Purification and characterization of the principal inhibitor of calcium oxalate monohydrate crystal growth in human urine. *J Biol Chem.* 1983; 258 (20): 12594-600.
- 34 Okafor CC, Lefebvre SL, Pearl DL, Yang M, Wang M, Blois SL, Lundb EM, Dewey CE. Risk factors associated with calcium oxalate urolithiasis in dogs evaluated at general care veterinary hospitals in the United States. *Prev Vet Med.* 2014; 115 (4): 217-28.
- 35 Ling GV, Norris CR, Franti CE, Eisele PH, Johnson DL, Ruby AL, Jang SS. Interrelations of organism prevalence, specimen collection method, and host age, sex and breed among 8,354 canine urinary tract infections (1969-1995). *J Vet Intern Med.* 2001; 15 (4): 341-7.
- 36 Bannasch D, Henthorn PS. Changing paradigms in diagnosis of inherited defects associated with urolithiasis. *Vet Clin N Am-Small.* 2008; 39 (1): 111-25.
- 37 Dear JD, Shiraki R, Ruby AL, Westropp JL. Feline urate urolithiasis: a retrospective study of 159 cases. *J Feline Med Sur.* 2011; 13 (10): 725-32.
- 38 Houston DM, Moore AEP. Canine and Feline urolithiasis: examination of over 50,000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith from 1998 to 2008. *Can Vet J.* 2009; 50 (12): 1263-7.

- 39 Greene ML, Marcus R, Aurbach GD, Kazam ES, Seegmiller JE. Hypouricemia due to isolated renal tubular defect. *Am J Med.* 1972; 53 (3): 361-7.
40. Bannasch D, Safra N, Young A, Karmi N, Schaible RS, Ling GV. Mutations in the SLC2A9 gene cause hyperuricemia in the dog. *Plos Genet.* 2008; 4 (11) 1-8.
- 41 Osborne CA, Lulich J, Forrester D, Albasan H. Paradigm changes in the role of nutrition for the management of canine and feline urolithiasis. *Vet Clin N Am-Small.* 2008; 39 (1): 127-141.
- 42 Ling GV, Case LC, Nelson H, Harrold DR, Johnson DL, Vulliet PR. Pharmacokinetics of allopurinol in Dalmatian dogs. *J Vet Pharmacol Ther.* 1997; 20 (2): 134-8.
- 43 Siafakas CG, Jonas MM, Alexander S, Herrin J, Furuta GT. Early onset of nephrotic syndrome after treatment with D-penicillamine in a patient with Wilson's disease. *Am J Gastroent.* 1998; 93 (12): 2554-48.
- 44 Aldrich J, Ling GV, Ruby AL, Johnson DL, Franti CE. Silica-containing urinary calculi in dogs (1981-1993). *J Vet Int Med.* 1997; 11 (5): 288-95.
- 45 Garcia-Navarro CE. *Manual de urinálise veterinária.* São Paulo: Varela, 2005, 131p.
- 46 Lulich JP, Osborne CA. Changing paradigms in the diagnosis of urolithiasis *Vet Clin Small Anim.* 2008; 39 (1): 79-91.
- 47 Weichselbaum RC, Feeney DA, Jessen CR, Osborne CA, Dreytser V, Holte J. Loss of urocystolith architectural cavity during *in vivo* radiographic simulation versus *in vitro* visualization. *Vet Radiol Ultrasound.* 2000; 41 (3): 241-6.
- 48 Dretler SP, Polykoff G. Calcium oxalate stone morphology: fine tuning our therapeutic distinctions. *J Urol.* 1996; 155 (2): 828-33.
- 49 Kalinski K, Marycz K, Czogala J, Serwa E, Janeczek W. An application of scanning electron microscopy combined with roentgen microanalysis (SEM-EDS) in canine urolithiasis. *J Electron Microsc.* 2012; 61 (1): 47-55.

50 Diaz-Espiñera M, Escolar E., Bellanato J, Fuente MA. Infrared and atomic spectrometry analysis of the mineral composition of a series of equine sabulous material samples and urinary calculi. *Res Vet Sci.* 1997; 63 (1): 93-5.

51 Materazzi S, Curini R, D'ascenzo G, Magri AD. TG-FTIR coupled analysis applied to the studies in urolithiasis: characterization of human renal calculi. *Thermochim Acta.* 1995; 264 (1): 75-93.

52 Mostafavi MR, Ernst RD, Saltzman B. Accurate determination of chemical composition of urinary calculi by spiral computerized tomography. *J Urol.* 1998; 159 (3): 673-5.

53 Grases F, Costa-Baúza A, Ramis M, Montesinos V, Conte A. Simple classification of renal calculi closely related to their micromorphology and etiology. *Clin Chim Acta.* 2002; 322 (1): 29-36.

54 Schubert G. Stone analysis. *Urol Res.* 2006; 34 (2): 146-50.

55 Moroz TN, Palchik NA, Dar'in AV. Microelemental and mineral compositions of pathogenic biomineral concrements: SRXFA, R-ray powder diffraction and vibrational spectroscopy data. *Nucl Instr Meth Phys Res A.* 2009; 603 (2): 141-43.

56 Krambeck AE, Khan NF, Jackson ME, Lingeman JE, Mcatteer JA, Williams JC. Inaccurate reporting of mineral composition by commercial stone analysis laboratories: implications for infection and metabolic stones. *J Urol.* 2010; 184 (4): 1543-9.

57 Sekkoum K, Scheriti A, Taleb S, Belboukhati N. FTIR spectroscopic study of human urinary stones from El Bayadh district (Algeria). *Arabian J Chem.* 2011; 37 (1): 27-37.

58 Selvaraju R, Thiruppathi G, Raja A. FT-IR spectral studies on certain human urinary stones in the patients of rural area. *Spectrochim Acta A.* 2012; 93 (4): 260-5.

59 Lee HP, Leong D, Heng CT. Characterization of kidney stones using the thermogravimetric analysis with electron dispersive spectroscopy. *Urol Res.* 2012; 40 (3):

197-204.

60 Ancharov AI, Potapov SS, Moiseenko TN, Feofilov IV, Nizovskii AI. Model experiment of *in vivo* synchrotron X-ray diffraction of human kidney stones. Nucl Instr Meth Phys Res A. 2007; 575 (4): 221-4.

61 Bellin M, Renard- Penna R, Court P, Bissery A, Meric J, Daudon M, Mallet A, Richard F, Grenier P. Helical CT evaluation of the chemical composition of urinary tract calculi with discriminant analysis of CT-attenuation values and density. Eur Radiol. 2004; 14 (11): 2134-40.

62 Kim SC, Burns EK, Lingeman JE, Peterson RF, McAtteer JA, Williams Jr JC. Cystine calculi: correlation of CT-visible structure, CT number , and stone morphology with fragmentation by shock wave lithotripsy. Urol Res. 2007; 35 (6): 319-24.

63 Pucetaite M, Hendrixson V, Zelvys A, Jankevivius F, Tyla R, Ceponkus J, Sablinskas V. Application of infrared spectroscopic imaging in specular reflection mode for determination of distribution of chemical components in urinary stones. J Molecular Struct. 2012; 1031 (1): 38-42.

64 Anderson JC.; Williams Jr JC; Evan AP, Condon KW, Sommer AJ. Analysis of urinary calculi using an infrared microspectroscopic surface reflectance imaging technique. Urol Res. 2007; 35 (1): 41-8.

## ANEXO A –Aprovação no comitê de ética

(Continua)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



Goiânia, 08/ 07/ 2013

PARECER CONSUBSTANCIADO REFERENTE AO PROJETO DE PESQUISA, PROTOCOLADO NESTE  
COMITÊ SOB O N. 028/13

**I - Finalidade do projeto (pesquisa/ensino):** pesquisa

**II - Identificação:**

**Título do projeto:**

ANÁLISE DA COMPOSIÇÃO DE URÓLITOS DE CÃES E GATOS NO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA PELO USO DE ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS)

**Pesquisador Responsável/ Unidade:**

- o Paula Costa Ariza - Escola de Veterinária E Zootecnia/ UFG

**Pesquisadores Participantes:**

Maria Clorinda Soares Fioravanti

Tatiane Oliveira dos Santos

Rogério Marques Fortes

Joyce Rodrigues Lobo

Helton Freire Oliveira

o

**Unidade onde será realizado:** ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA/ UFG

**Data de apresentação ao CEUA:** 11/04/2013

**III - Objetivos e justificativa do projeto:**

**Objetivo**

Determinar a composição de urólitos cirurgicamente removidos de cães e gatos submetidos previamente a urinálise no município de Goiânia.

**Justificativa:**

A identificação da composição dos urólitos é importante para o tratamento das urolitíases a longo prazo, bem como para a identificação dos mecanismos patofisiológicos que levaram à formação dos mesmos.

**IV - Sumário do projeto:**

**Discussão sobre a possibilidade de métodos alternativos:**

- o Não se aplica, pois a metodologia envolve apenas a coleta de material na rotina de clínicas, evitando o uso direto de animais na experimentação.

**Descrição do animal utilizado (número, espécie, linhagem, sexo, peso, etc):**

Nesse estudo serão utilizados cães e gatos com urolitíase provenientes da casuística do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (HV-UFG), Goiânia e de clínicas e hospitais veterinários particulares do município de Goiânia. Os animais selecionados correspondem a um total de 50, pertencentes a proprietários (domiciliados), machos e fêmeas, com idades variadas. Desses animais serão analisados quanto a sua composição química os urólitos removidos cirurgicamente nas clínicas e hospitais veterinários.

**Descrição das instalações utilizadas e número de animais/área/qualidade do Ambiente (ar, temperatura, umidade), Alimentação/hidratação:**

- o Não se aplica.

**Utilização de agente infeccioso/gravidade da infecção a ser observada:**

- o Não se aplica.

*Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA*

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFG, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia (Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.

Email: ceua.ufg@gmail.com

(Conclusão)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA



- Adequação da metodologia e considerações sobre o sofrimento imposto aos animais:**
    - o Como são animais em tratamentos nas clínicas, estes não serão expostos a sofrimento advindos da metodologia do projeto.
  - Método de eutanásia:**
    - o Não se aplica.
  - Destino do animal:**
    - o Retornarão as seus proprietários.
- IV – Comentários do relator frente às orientações da SBCAL**
- Estrutura do protocolo:**
    - o O protocolo apresenta todos os documentos necessários à sua análise, incluindo o termo de anuência para coleta de dados no Hospital Veterinário da EVZ-UFV, bem como os termos de autorização de coleta dos urólitos das Clínicas Veterinárias.
    - o Possui orçamento detalhado, mas não informam a fonte do custeio.
    - o Apresenta cronograma adequado.
  - Análise de sofrimento imposto, métodos alternativos e benefícios:**

O projeto em questão não irá alterar os procedimentos clínicos-cirúrgicos padronizados para o tratamento da urolitíase, não gerando risco adicional ao paciente. O resultado da análise será enviado ao médico veterinário responsável pelo caso para que seja instaurado o protocolo pós-cirúrgico adequado, ocasionando benefícios para o próprio animal inserido no projeto.
  - Análise dos riscos aos pesquisadores/alunos:**
    - o A execução do projeto implica em riscos menores ligados à rotina de laboratório na fase de análise da composição dos urólitos.
  - Necessidade do número de animais:**

Segundo os autores, 50 animais seria um número adequado para minimizar os erros e favorecer resultados mais fidedignos para a análise estatística.

**V - Parecer do CEUA:**

De acordo com a documentação apresentada a este comitê consideramos o projeto **APROVADO**, smj deste Comitê.

**VI - Data da reunião:** 08/07/2013

**Dra. Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera**

Coordenadora da CEUA/PRPPG/UFV

*Prófa. Ekaterina Akimovna Botovchenko Rivera  
Coordenadora de Comissão de Ética no uso de Animais  
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação / UFV*

*Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA*

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PRPPG-UFV, Caixa Postal: 131, Prédio da Reitoria, Piso 1, Campus Samambaia  
(Campus II) - CEP:74001-970, Goiânia – Goiás, Fone: (55-62) 3521-1215.  
Email: ceua.ufv@gmail.com