

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

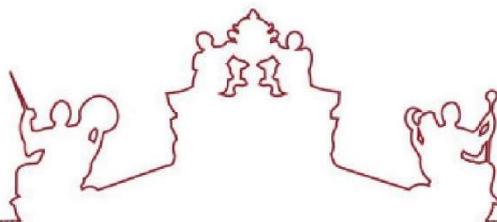
Dissertação

Prevalência e Sensibilidade Antimicrobiana em Infecções do Trato Urinário em Cães - Estudo Retrospectivo

Margarida Correia Raposo

Orientador(es) | David Orlando Ferreira
Maria Teresa Oliveira
Fausto dos Santos Brandão

Évora 2025



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

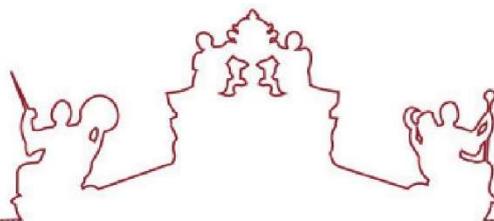
Dissertação

Prevalência e Sensibilidade Antimicrobiana em Infecções do Trato Urinário em Cães - Estudo Retrospectivo

Margarida Correia Raposo

Orientador(es) | David Orlando Ferreira
Maria Teresa Oliveira
Fausto dos Santos Brandão

Évora 2025



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Sónia Lucena (Universidade de Évora)

Vogais | David Orlando Ferreira (Universidade de Évora) (Orientador)
Maria Cristina Queiroga (Universidade de Évora) (Arguente)

RESUMO

A infecção do trato urinário é frequentemente diagnosticada em cães e a antibioterapia é a base do seu tratamento. A escolha inadequada do antimicrobiano pode constituir um obstáculo ao sucesso terapêutico e contribuir para o desenvolvimento de resistência antimicrobiana. Foi realizado um estudo retrospectivo incluindo 98 amostras de urina de canídeos avaliados no Hospital Veterinário do Atlântico com suspeita de ITU, submetidas a cultura bacteriana, durante o ano de 2021. Foram isolados 28 microrganismos, majoritariamente em fêmeas, sem predisposição racial, sendo a *Escherichia coli* o agente etiológico com maior prevalência (42,9%), seguindo-se o *Proteus mirabilis* (25,0%) e o *Enterococcus* spp. (21,4%). Relativamente aos antimicrobianos de primeira linha, 76,2% dos isolados revelaram sensibilidade à amoxicilina e 74,1% à amoxicilina e ácido clavulânico, já ao trimetoprim-sulfametoxazol a sensibilidade demonstrada foi de 100%. Foram identificadas sete (25,0%) bactérias multirresistentes, das quais 85,7% demonstraram sensibilidade à gentamicina, amicacina e trimetoprim-sulfametoxazol.

Palavras-chave: Infecção do trato urinário, cães, antimicrobiano, resistência, sensibilidade.

ABSTRACT

Prevalence and Antimicrobial Susceptibility in Urinary Tract Infections in Dogs - Retrospective Study

Urinary tract infection is frequently diagnosed in dogs and antibiotherapy is the cornerstone of its treatment. The inappropriate choice of antimicrobial may constitute an obstacle to therapeutic success and contribute to the development of antimicrobial resistance. A retrospective study was conducted including 98 urine samples from dogs evaluated at Hospital Veterinário do Atlântico with suspected UTI, submitted to bacterial culture, during the year of 2021. 28 microorganisms were isolated, mostly in females, with no racial predisposition, being *Escherichia coli* the most prevalent etiologic agent (42,9%), followed by *Proteus mirabilis* (25,0%) and *Enterococcus* spp. (21,4%). Regarding first-line antimicrobials, 76,2% of the isolates showed susceptibility to amoxicillin and 74,1% to amoxicillin and clavulanic acid, while susceptibility to trimethoprim-sulfamethoxazole was 100%. Seven (25,0%) multidrug resistant bacteria were identified, of which 85,7% showed susceptibility to gentamicin, amikacin, and trimethoprim-sulfamethoxazole.

Keywords: Urinary tract infection, dogs, antimicrobial, resistance, susceptibility.

Abreviaturas, siglas e símbolos

AINEs - anti-inflamatórios não esteroides

CFU - colony forming units (unidades formadoras de colónias)

MIC - minimal inhibitory concentration (concentração inibitória mínima)

CNF1 - cytotoxic necrotizing factor 1 (fator citotóxico necrotizante tipo 1)

DM - diabetes mellitus

DNA - deoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucleico)

DRC - doença renal crónica

ESBLs - extended spectrum beta-lactamases (beta-lactamases de espectro alargado)

EUCAST - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Comité Europeu de Avaliação de Suscetibilidade Antimicrobiana)

ExPEC - extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (*Escherichia coli* patogénica extraintestinal)

h - horas

HlyA - hemolysin A (alfa-hemolisina)

HVA - Hospital Veterinário do Atlântico

ICEs - integrative conjugative elements (elementos integrativos e conjugativos)

IM - intramuscular

ISCAID - International Society for Companion Animal Infectious Diseases (Sociedade Internacional de Doenças Infeciosas em Animais de Companhia)

ITU - infeção do trato urinário

ITUs - infeções do trato urinário

IV - intravenoso

LPS - lipopolissacarídeo

L2 - segunda vértebra lombar

MR - manose-resistentes

MRSA - Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente à metilina)

PBP - proteína de ligação à penicilina

PD - polidipsia

pH - grau de acidez

PM - *Proteus mirabilis*

PO - *per os*

Pta - aglutinina tóxica do *Proteus*

PU - poliúria

QRDR - quinolone resistance-determining regions (região determinante de resistência às fluoroquinolonas)

q12h - a cada 12 horas

q24h - a cada 24 horas

q6h - a cada 6 horas
q8h - a cada 8 horas
RNA - ribonucleic acid (ácido ribonucleico)
SC - subcutâneo
SDMA - dimetilarginina simétrica
SRD - sem raça definida
SUB - subcutaneous ureteral bypass (bypass ureteral subcutâneo)
TLRs - toll-like receptors (receptores do tipo Toll)
TSA - teste de sensibilidade aos antimicrobianos
UPC - urine protein/creatinine (proteína/creatinina urinária)
UPEC - uropathogenic *Escherichia coli* (*Escherichia coli* uropatogénica)
VD - ventrodorsal
% - percentagem
°C - graus celsius
° - graus

Índice Geral

1.	Introdução	12
1.1.	Classificação da ITU	12
1.1.1.	Cistite bacteriana esporádica	12
1.1.2.	Cistite bacteriana recorrente	13
1.1.3.	Pielonefrite.....	14
1.1.4.	Prostatite bacteriana.....	14
1.1.5.	Bacteriúria subclínica	14
1.2.	Fatores predisponentes.....	15
1.2.1.	Anatômicos e funcionais.....	15
1.2.2.	Condições metabólicas	15
1.2.3.	Cateteres urinários	16
1.2.4.	Cirurgia urológica, procedimentos urológicos de mínima invasão e implantes urológicos.....	16
1.3.	Etiologia e patogenia.....	17
1.4.	Mecanismos de defesa do hospedeiro	18
1.5.	Sinais clínicos.....	19
1.5.1.	Infeção do trato urinário inferior	19
1.5.2.	Infeção do trato urinário superior	20
1.6.	Diagnóstico.....	21
1.6.1.	Colheita de urina	22
1.6.2.	Manuseamento de amostras de urina.....	23
1.6.3.	Urianálise.....	24
1.6.4.	Cultura bacteriana e teste de sensibilidade aos antimicrobianos	26
1.6.5.	Ecografia abdominal.....	29
1.6.6.	Uretrocistoscopia.....	29
1.6.7.	Pielocentese	31
1.6.8.	Radiografia abdominal e urografia de excreção	31
1.6.9.	Cistografia e uretrografia de contraste	33
1.6.10.	Biópsia	34
1.7.	Tratamento	34
1.7.1.	Cistite bacteriana esporádica	35
1.7.2.	Cistite bacteriana recorrente	39
1.7.3.	Pielonefrite.....	39
1.7.4.	Prostatite bacteriana.....	40
1.7.5.	Bacteriúria assintomática	40

1.8.	Mecanismos de ação dos antimicrobianos	41
1.8.1.	Inibição da síntese da parede celular.....	41
1.8.2.	Inibição da síntese proteica.....	41
1.8.3.	Inibição da síntese dos ácidos nucleicos	42
1.8.4.	Inibição das vias metabólicas.....	42
1.8.5.	Inibição da função da membrana celular bacteriana	43
1.9.	Mecanismos de resistência antimicrobiana	43
1.9.1.	Limitação da captação do fármaco	44
1.9.2.	Efluxo ativo do fármaco	45
1.9.3.	Inativação do fármaco	45
1.9.4.	Modificação do alvo do fármaco.....	46
1.10.	Características e mecanismos de resistência dos principais agentes bacterianos presentes em ITU	46
1.10.1.	<i>Escherichia coli</i>	47
1.10.2.	<i>Proteus mirabilis</i>	49
1.10.3.	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	51
1.10.4.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	52
1.10.5.	<i>Staphylococcus</i> sp.....	54
1.10.6.	<i>Enterococcus</i> sp.....	55
1.10.7.	<i>Streptococcus</i> sp.....	57
1.11.	Objetivos	58
2.	Material e Métodos.....	58
3.	Resultados	59
3.1.	Perfil de sensibilidade <i>Escherichia coli</i>	62
3.2.	Perfil de sensibilidade <i>Proteus mirabilis</i>	63
3.3.	Perfil de sensibilidade <i>Enterococcus</i> sp.....	64
3.4.	Perfil de sensibilidade <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	65
3.5.	Perfil de sensibilidade <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
4.	Discussão de Resultados.....	67
4.1.	<i>Escherichia coli</i>	69
4.2.	<i>Proteus mirabilis</i>	71
4.3.	<i>Enterococcus</i> sp.....	72
4.4.	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	72
4.5.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	73
5.	Conclusão	74
6.	Bibliografia.....	75

Índice de Tabelas

Tabela 1. Principais fármacos recomendados para o tratamento de ITU (Adaptado de Weese, <i>et al.</i> , 2019).	37
Tabela 2. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos <i>E. coli</i>	63
Tabela 3. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos <i>P. mirabilis</i>	64
Tabela 4. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos <i>Enterococcus</i> sp.	65
Tabela 5. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos <i>S. pseudintermedius</i>	66
Tabela 6. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos <i>P. aeruginosa</i>	67

Índice de Figuras

Figura 1. Distribuição por raça dos animais com culturas positivas.	59
Figura 2. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas.	60
Figura 3. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas de fêmeas.	60
Figura 4. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas de machos.	60
Figura 5. Proporção de bactérias resistentes relativamente às bactérias testadas.....	61
Figura 6. Antimicrobianos aos quais os microrganismos apresentaram 100% de sensibilidade.	62

1. Introdução

A infecção do trato urinário (ITU) consiste na colonização microbiana de qualquer porção do trato urinário, excetuando a uretra distal que possui uma flora bacteriana normal (Patel, *et al.*, 2022; Thomas, *et al.*, 2023). A infecção pode afetar mais do que um órgão e localizar-se no trato urinário superior, afetando o rim e o ureter adjacente (pielonefrite) ou no trato urinário inferior, afetando a bexiga e a uretra (cistite ou uretricitite) (Foster, 2020), podendo afetar concomitantemente a próstata (prostatite) em cães machos inteiros (Westropp & Sykes, 2023). Uma vez estabelecida a infecção, todo o trato urinário fica em risco de colonização (Lanzi, *et al.*, 2021).

As infecções do trato urinário (ITUs) são geralmente provocadas por bactérias provenientes do trato urogenital distal, do trato gastrointestinal ou da pele dos próprios hospedeiros (Lanzi, *et al.*, 2021), embora possam ser causadas também por fungos e vírus (Bartges & Olin, 2017).

Aproximadamente 14% dos cães desenvolvem no mínimo uma ITU durante o curso das suas vidas (Bloch, *et al.*, 2022; Garcês, *et al.*, 2022) e estima-se que 10% dos cães que se apresentam em consulta, por qualquer motivo, tenham uma ITU (Patel, *et al.*, 2022). Existe um maior risco de desenvolvimento de ITU em fêmeas esterilizadas e em cães mais velhos, sendo que os animais diagnosticados têm uma média de idades entre os sete e os oito anos (Lanzi, *et al.*, 2021; Westropp & Sykes, 2023).

1.1. Classificação da ITU

As diretrizes da Sociedade Internacional de Doenças Infeciosas em Animais de Companhia (ISCAID) para o diagnóstico e manejo de ITUs em animais de companhia, atualizadas em 2019, apresentaram as seguintes classificações de ITU: cistite bacteriana esporádica, cistite bacteriana recorrente, pielonefrite, prostatite bacteriana e bacteriúria subclínica (Weese, *et al.*, 2019).

1.1.1. Cistite bacteriana esporádica

A cistite bacteriana esporádica é definida como uma infecção bacteriana esporádica da bexiga associada a sintomatologia compatível com doença do trato urinário inferior, em animais que tenham tido menos do que três episódios de cistite bacteriana (diagnosticada ou suspeita) nos 12 meses anteriores. Apesar de ser uma afeção comum em cães, raramente se manifesta

em cães machos inteiros, sendo importante suspeitar de prostatite bacteriana na presença de sinais clínicos de trato urinário inferior (Weese, *et al.*, 2019).

O termo “cistite esporádica” foi anteriormente utilizado para descrever uma infecção em fêmeas não gestantes saudáveis, machos castrados que não possuam qualquer anomalia funcional ou anatômica do trato urinário e animais sem outras comorbidades (como endocrinopatias). Contudo, animais com anomalias do trato urinário ou comorbidades podem desenvolver cistite esporádica, não havendo um risco aumentado de complicações, recorrências ou infecções com dificuldade acrescida no seu tratamento (Weese, *et al.*, 2019).

1.1.2. Cistite bacteriana recorrente

A cistite bacteriana recorrente implica um diagnóstico clínico de três ou mais episódios de cistite bacteriana nos 12 meses anteriores ou dois ou mais episódios nos seis meses antecedentes. A recorrência da infecção pode resultar de uma infecção persistente, recaída, ou reinfeção e a diferenciação entre estas situações pode ser útil na escolha do plano terapêutico (Weese, *et al.*, 2019).

A ITU é definida como persistente quando a bacteriúria se mantém presente durante a antibioterapia, com o mesmo microrganismo. Neste caso, o agente infeccioso não é erradicado, apesar da administração do antimicrobiano. Uma infecção persistente pode indicar que o sistema imunitário do paciente está comprometido ou que o organismo é resistente ao antimicrobiano administrado (DiBartola & Westropp, 2020).

Suspeita-se de uma recaída quando se isola o mesmo microrganismo num período de seis meses após a sua aparente eliminação (Westropp & Sykes, 2023), que resulta da ineficácia em erradicar completamente o agente infeccioso (DiBartola & Westropp, 2020). A recaída de uma ITU difere de uma infecção persistente no sentido em que, durante a recaída, a urina pode ficar livre de infecção, embora alguns reservatórios bacterianos persistam, permitindo a recolonização com o mesmo organismo após dias ou semanas (Wood, 2017). O microrganismo pode permanecer profundamente nos tecidos, inacessível aos antimicrobianos, em localizações como o tecido renal, a glândula prostática ou urólitos (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

A ocorrência de uma ITU num período de seis meses após a aparente resolução de uma infecção anterior causada por um microrganismo diferente, é definida como uma reinfeção (Westropp & Sykes, 2023). A reinfeção ocorre na presença de alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro que permitem que novas espécies bacterianas colonizem a bexiga semanas a meses após a ITU inicial. Tanto em reinfeções como em recaídas, há um período em que a urina do paciente é estéril, o que torna difícil a diferenciação entre as duas situações

quando são isoladas as mesmas espécies bacterianas em infecções subsequentes (Wood, 2017).

1.1.3. Pielonefrite

A pielonefrite é uma inflamação do parênquima renal, geralmente causada por infecção, que pode ser aguda ou crônica (DiBartola & Westropp, 2020) e resultar em dano renal severo. Em medicina humana a pielonefrite aguda é classificada como não complicada ou complicada. A não complicada implica a ausência de comorbidades subjacentes e a complicada sugere a presença de uma doença sistêmica como diabetes mellitus (DM), neoplasia ou uma anomalia anatômica/obstrutiva como urólitos ou ureter ectópico (Weese, *et al.*, 2019).

1.1.4. Prostatite bacteriana

A prostatite bacteriana é uma infecção da próstata que pode ser aguda ou crônica (Westropp & Sykes, 2023). É uma afeção frequente em machos inteiros embora a sua ocorrência seja rara na prática veterinária, em algumas regiões, devido à grande prevalência de orquiectomia na população canina. Não obstante, deve-se suspeitar de prostatite bacteriana em cães machos inteiros com sintomatologia compatível com o trato urinário inferior (Weese, *et al.*, 2019).

1.1.5. Bacteriúria subclínica

A bacteriúria subclínica é definida como a presença de bactérias (confirmada por uma cultura bacteriana positiva) numa amostra de urina adequadamente colhida, na ausência de evidência clínica de infecção do trato urinário. A bacteriúria subclínica não é rara, mesmo em animais sem fatores predisponentes. Têm sido registadas taxas de bacteriúria assintomática de 2,1-12% em cães saudáveis e taxas mais altas (15-74%) em animais morbidamente obesos, com diabetes mellitus, parvovirose, hérnia discal aguda, cronicamente paralisados e cães tratados com ciclosporina ou glucocorticoides (Weese, *et al.*, 2019).

1.2. Fatores predisponentes

O desenvolvimento de uma ITU é multifatorial, dependendo da relação entre a virulência do agente infeccioso e alterações anatômicas, ambientais ou imunitárias do hospedeiro (Wood, 2017). Estas alterações constituem fatores que predisõem ou contribuem para o desenvolvimento de infecções, quer sejam esporádicas, recorrentes ou assintomáticas (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). Os fatores predisponentes facilitam a ascensão bacteriana e o consequente desenvolvimento de ITUs, podendo também dificultar a erradicação de uma infecção já estabelecida no trato urinário (DiBartola & Westropp, 2020).

1.2.1. Anatômicos e funcionais

As fêmeas apresentam uma maior predisposição para o desenvolvimento de ITUs do que os machos (Byron, 2018; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). A uretra das fêmeas é de maior diâmetro e de menor comprimento, facilitando a ascensão bacteriana e, devido à proximidade entre o ânus e o orifício uretral nas mesmas, existe uma maior probabilidade de contaminação fecal e inoculação de microrganismos (Aurich, *et al.*, 2022).

Alguns fatores anatômicos associados a ITUs recorrentes englobam persistência do úraco, divertículo vesicouracal, dermatite perivulvar, hipoplasia vulvar, ureteres ectópicos, neoplasia no trato urinário, estenose uretral, cistite polipoide, corpos estranhos e doença prostática (Bartges & Olin, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

Fatores funcionais que aumentam o risco de desenvolvimento de infecção incluem disfunções da micção como retenção urinária ou incontinência urinária (mais frequentemente devido a doença neurológica), imunossupressão causada por tratamentos com corticosteroides ou outros fármacos imunossupressores, presença de urolitíase e neoplasia sistêmica (Bartges & Olin, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

1.2.2. Condições metabólicas

Em cães, a diabetes mellitus, o hiperadrenocorticismismo e a doença renal crônica (DRC) são afeções que podem predispor para ITU (Bartges & Olin, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

A DM é uma afeção que pode predispor a ITU pelos seus efeitos imunossupressores, durante a hiperglicémia, associados à diminuição da resposta inflamatória pelos leucócitos (Bartges & Olin, 2017) e consequente glicosúria que proporciona um ambiente rico em glucose

no trato urinário, promovendo o crescimento de algumas bactérias (Chávez-Reyes, *et al.*, 2021).

Em cães com hiperadrenocorticismo, o excesso de glucocorticoides tem efeitos imunossupressores, aumentando a suscetibilidade a infecções. Como consequência, cães com esta endocrinopatia desenvolvem frequentemente bacteriúria, comparável à de cães submetidos a terapias de longa duração com fármacos imunossupressores (Bennaim, *et al.*, 2019; Dupont, *et al.*, 2020).

Animais com DRC apresentam um risco acrescido de infecção devido ao enfraquecimento da resposta imune causado pela cronicidade da inflamação (Shankar, *et al.*, 2021). Um dos mecanismos de defesa do trato urinário inferior é a elevada concentração de fatores antimicrobianos intrínsecos da urina associada a uma urina com densidade específica elevada. Considerando este mecanismo, tem sido sugerido que doenças que provoquem isostenúria, como a DRC, possam causar predisposição para ITUs, já que numa urina mais diluída, há uma diminuição desses fatores antimicrobianos (Lamoureux, *et al.*, 2018).

1.2.3. Cateteres urinários

O cateterismo uretral é um procedimento comum em medicina veterinária e uma parte integrante do manejo de alguns pacientes. Uma vez que o cateter uretral atua como uma comunicação direta entre o ambiente externo e a bexiga, o cateterismo uretral está associado a um risco de bacteriúria ou cistite bacteriana. A colonização do cateter urinário ou da bexiga pode resultar em cistite, bacteriúria subclínica ou infecção extra-urinária, sendo alta a prevalência de bacteriúria em cães cateterizados (10 – 55%). As bactérias responsáveis têm geralmente origem na flora gastrointestinal do hospedeiro e a duração do cateterismo é o fator de risco mais importante para o desenvolvimento de infecção (Weese, *et al.*, 2019).

1.2.4. Cirurgia urológica, procedimentos urológicos de mínima invasão e implantes urológicos

O número de procedimentos urológicos de mínima invasão como cistoscopia, biópsia vesical cistoscópica, litotripsia a laser guiada por cistoscopia para a remoção de cálculos vesicais e uretrais, uretrotomia e uretostomia, injeção de agentes de volume para o tratamento de incontinência urinária, urohidropulsão, colocação de *stent* uretral ou ureteral, colocação de bypass ureteral subcutâneo (SUB, *subcutaneous ureteral bypass*), estudos urodinâmicos e ablação a laser de ureteres ectópicos guiada por cistoscopia tem vindo a aumentar em cães nos últimos cinco a dez anos (Weese, *et al.*, 2019).

As potenciais fontes de infecção durante os procedimentos urológicos são as floras cutânea, vaginal e retal. Os procedimentos podem ser complicados pela presença de uma infecção ativa no local cirúrgico, infecção com localização adjacente (por exemplo, na próstata) ou bacteriúria subclínica. As consequências da infecção podem ser consideráveis em algumas situações pelo potencial de colonização persistente de alguns aparelhos como os *stents* (Weese, *et al.*, 2019).

1.3. Etiologia e patogenia

De uma forma geral, as ITUs ocorrem quando um microrganismo uropatogénico proveniente da flora gastrointestinal, urogenital ou cutânea (Lanzi, *et al.*, 2021; Mancuso, *et al.*, 2023) coloniza a uretra e a bexiga através da ação de adesinas específicas. Se a resposta inflamatória do hospedeiro não eliminar o agente infeccioso, este multiplica-se e produz toxinas e enzimas que possibilitam a sua sobrevivência (Mancuso, *et al.*, 2023). Ocasionalmente, a infecção pode ocorrer por propagação hematogénica, como consequência de bacteremia (Westropp & Sykes, 2023). A ITU associada a cateteres urinários resulta da migração ascendente de bactérias para a bexiga através do lúmen do cateter ou ao longo da superfície externa do mesmo (Weese, *et al.*, 2019).

Na maioria dos casos, a prostatite bacteriana desenvolve-se por ascensão microbiana, contudo, a infecção pode ocorrer secundariamente a cistite ou por via hematogénica (Olin & Bartges, 2015).

A pielonefrite resulta, mais frequentemente, da ascensão bacteriana proveniente do trato urinário inferior, embora possa também ocorrer pela via hematogénica (Westropp & Sykes, 2023).

Em aproximadamente 75% das infeções apenas um microrganismo é isolado, cerca de 20% das ITUs são causadas por duas espécies e sensivelmente 5% são causadas por três espécies bacterianas (Bartges, *et al.*, 2017).

As bactérias Gram-negativas mais frequentemente isoladas em amostras de urina de cães com ITU são *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa* (Westropp & Sykes, 2023; Aurich, *et al.*, 2022), sendo a *E. coli* o agente etiológico mais frequente, causando cerca de 50% das ITUs (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

As bactérias Gram-positivas mais comumente envolvidas em infeções do trato urinário são *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp. e *Streptococcus* spp. (Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

Apesar dos micoplasmas já terem sido reportados como causadores de ITUs em cães, a sua significância clínica não é clara pois em grande parte desses casos existiam múltiplas

doenças concomitantes (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023), sendo isolado em urina de cães com sintomatologia de infecção do trato urinário inferior em menos de 5% das amostras (Bartges & Olin, 2017).

1.4. Mecanismos de defesa do hospedeiro

Ao longo de todo o trato urinário existem mecanismos de defesa locais que impedem a colonização bacteriana (Byron, 2018; DiBartola & Westropp, 2020). Uma falha permanente ou temporária destes mecanismos de defesa permite a adesão, multiplicação e persistência de microrganismos patogênicos no trato urinário (Bartges & Olin, 2017).

A genitália externa e a uretra distal dos cães não são ambientes estéreis e possuem uma flora bacteriana normal (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). Esta flora bacteriana residente compete com as bactérias patogênicas por nutrientes, dificulta a sua aderência a receptores epiteliais vaginais (Westropp & Sykes, 2023) e impede o seu acesso ao trato urinário ao produzir bacteriocinas que inibem as bactérias patogênicas (DiBartola & Westropp, 2020). Não obstante, a população bacteriana residente pode tornar-se uropatogênica caso haja uma alteração nas defesas do hospedeiro (Bartges & Olin, 2017).

A micção normal e o esvaziamento completo e frequente da bexiga dificultam a ascensão e aderência bacteriana ao expulsar mecanicamente as bactérias presentes no trato urinário (Byron, 2018; DiBartola & Westropp, 2020). O peristaltismo ureteral e uretral elimina bactérias com capacidades adesivas (Sula & Lane, 2022).

Uma urina com pH baixo, uma elevada concentração de ureia e elevada osmolaridade interferem com o crescimento bacteriano (DiBartola & Westropp, 2020; Martell, 2020; Sula & Lane, 2022). Foi realizado um estudo com o objetivo de determinar o efeito destes fatores no crescimento da *E. coli*, *in vitro*, em amostras de urina de cadelas esterilizadas. O estudo concluiu que a *E. coli* apresentava uma maior taxa de crescimento em urina diluída e em urina acídica em comparação com uma urina concentrada e uma urina alcalina, respetivamente. Contudo, o crescimento verificado em urina com pH neutro (pH 7) foi superior ao crescimento em urina ácida ou alcalina. Uma diminuição da concentração de ureia com preservação da osmolaridade, reduziu a atividade antibacteriana da urina e o aumento da concentração de ureia aumentou consideravelmente a atividade antibacteriana, sugerindo que a concentração de ureia pode ser um fator mais importante na atividade antibacteriana do que a osmolaridade (Thornton, *et al.*, 2017).

O uroepitélio é a principal barreira do trato urinário contra a infecção (Martell, 2020). As uroplaquinhas, que são glicoproteínas produzidas pelo uroepitélio, atuam como barreira química aos microrganismos (Bowyer, *et al.*, 2022) e a camada superficial de glicosaminoglicanos, que reveste o epitélio, dificulta a aderência bacteriana (Bowyer, *et al.*, 2022; Westropp & Sykes,

2023). Adicionalmente, as células epiteliais infetadas são libertadas para o lúmen da bexiga através de um processo de exfoliação, reduzindo a carga bacteriana (Martell, 2020).

As células epiteliais expressam recetores do tipo Toll (TLRs, *toll-like receptors*) em resposta à presença de patogénios. A ativação do TLR4 leva à libertação de citocinas pró-inflamatórias, péptidos antimicrobianos e várias quimiocinas, que atraem neutrófilos da corrente sanguínea para o lúmen da bexiga que realizam a fagocitose (Martell, 2020). A uromodulina (também conhecida por proteína de *Tamm-Horsfall*) é um péptido antimicrobiano que se liga às fímbrias do tipo 1 da UPEC, impedindo a adesão bacteriana ao uroepitélio (Bowyer, *et al.*, 2022). A lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos é uma proteína que se liga a sideróforos bacterianos, limitando a proliferação das bactérias. No trato urinário inferior, as células que combatem a colonização bacteriana incluem mastócitos, macrófagos, neutrófilos e células *natural killer* (Martell, 2020).

Os rins estão protegidos da infeção bacteriana pelas válvulas vesicoureterais e pelos ureteres que garantem que o fluxo urinário seja unidirecional através do peristaltismo (Olin & Bartges, 2015). As células epiteliais do bacinete produzem péptidos antimicrobianos e quimiocinas recrutadoras de neutrófilos que protegem o rim da infeção ascendente (Bowyer, *et al.*, 2022). No trato urinário superior, as células de defesa contra agentes infecciosos incluem células dendríticas, macrófagos, neutrófilos e linfócitos (Martell, 2020).

1.5. Sinais clínicos

Os sinais clínicos associados à ITU são variáveis e dependem do carga microbiana e da virulência dos microrganismos, da presença ou ausência de doenças concomitantes, da resposta do sistema imunitário à infeção e da sua duração e localização (Bartges & Olin, 2017).

1.5.1. Infeção do trato urinário inferior

Uma cistite (ou uretrocistite) resulta em inflamação e os sinais clínicos podem incluir disúria, estrangúria, polaquiúria (Weese, *et al.*, 2019; Westropp & Sykes, 2023), hematúria (Bartges & Olin, 2017) e periúria (DiBartola & Westropp, 2020). Os sinais clínicos de prostatite bacteriana em cães podem incluir estrangúria, febre, depressão, letargia, desidratação, hiporexia, perda de peso, vômitos, diarreia, tenesmo e dor abdominal (Davidson, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). Adicionalmente, os animais podem manifestar sinais de sépsis ou choque séptico (como taquicardia ou bradicardia e taquipneia). Os cães com prostatite bacteriana crónica podem não apresentar sintomas de doença ou apresentar apenas letargia (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

De uma forma geral, o exame físico de animais com cistite não apresenta alterações (DiBartola & Westropp, 2020). Alguns animais podem apresentar incontinência urinária e pode-se detetar um odor forte a amónia na urina (Westropp & Sykes, 2023) que se deve à presença de bactérias produtoras de urease (Yadav, *et al.*, 2020) (enzima que participa na hidrólise de ureia em amónia (Mancuso, *et al.*, 2023)). Ocasionalmente pode-se observar uma descarga mucopurulenta proveniente da genitália externa, particularmente em fêmeas (Bartges & Olin, 2017). Os animais com cistite bacteriana podem apresentar dor abdominal caudal à palpação, sendo mais frequente quando existe prostatite bacteriana concomitante (Westropp & Sykes, 2023). A bexiga encontra-se frequentemente de tamanho reduzido e com a parede espessada como consequência de inflamação persistente e polaquiúria. Os cálculos uretrais podem ser palpáveis, se estiverem presentes (DiBartola & Westropp, 2020). Em cães com prostatite bacteriana pode-se detetar uma descarga hemorrágica ou purulenta em torno do orifício uretral. No exame retal, os animais podem manifestar dor à palpação e a próstata pode apresentar um tamanho e forma normais ou estar aumentada e assimétrica (Davidson, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

Nas infeções localizadas no trato urinário inferior, as análises hematológicas e bioquímicas não costumam apresentar alterações. Os achados da urianálise que sugerem a presença de ITU incluem isostenúria, piúria, hematúria, proteinúria e bacteriúria. As análises laboratoriais de animais com prostatite bacteriana podem revelar uma anemia leve, leucocitose por neutrofilia e monocitose, trombocitopenia e hipoalbuminemia (Westropp & Sykes, 2023).

1.5.2. Infeção do trato urinário superior

Os sinais clínicos de pielonefrite podem incluir febre, letargia, poliúria (PU) e polidipsia (PD) (Weese, *et al.*, 2019), hiporexia, hematúria (Westropp & Sykes, 2023) e desidratação (DiBartola & Westropp, 2020). Contudo, há a possibilidade destes animais estarem oligúricos ou anúricos ou ter sinais clínicos vagos (Weese, *et al.*, 2019). Animais com ITU do trato urinário superior podem apresentar sinais clínicos derivados de septicemia (Bartges & Olin, 2017) ou azotémia, como vômito e diarreia (Westropp & Sykes, 2023). A pielonefrite crónica pode ser assintomática ou associada a PU/PD secundária (Westropp & Sykes, 2023). Ao exame físico, os animais podem acusar dor abdominal uni ou bilateral à palpação renal e os rins podem apresentar-se normais ou de tamanho aumentado (Bartges & Olin, 2017).

As análises hematológicas de animais com pielonefrite podem revelar uma anemia leve, leucocitose por neutrofilia, aumento dos neutrófilos em banda, monocitose e trombocitopenia. Nas análises bioquímicas, pode estar presente uma hipoalbuminemia e o rácio proteína-creatinina urinário (UPC) pode estar aumentado, como consequência de dano renal ou glomerular (Westropp & Sykes, 2023). Adicionalmente, concentrações aumentadas de

creatinina sérica ou dimetilarginina simétrica (SDMA) podem sustentar a suspeita de presença de dano renal associado a bacteriúria (Weese, *et al.*, 2019). Não obstante, a pielonefrite pode estar presente em animais sem alterações nas análises hematológicas e bioquímicas (Westropp & Sykes, 2023). Na urianálise pode-se detetar piúria, hematúria (Bartges & Olin, 2017), cilindúria e uma densidade específica da urina diminuída (Weese, *et al.*, 2019).

1.6. Diagnóstico

O diagnóstico de uma infecção do trato urinário é baseado na anamnese, sinais clínicos presentes, urianálise completa (densidade específica urinária, tira urinária a exame do sedimento), urocultura, alterações laboratoriais e achados imagiológicos (Byron, 2018; Thomas A. , *et al.*, 2023; Westropp & Sykes, 2023).

De uma forma geral, as análises laboratoriais e o diagnóstico por imagem não são necessários nos casos em que a suspeita de infecção é um evento isolado e o animal está saudável, excetuando a ITU. Contudo, o exame imagiológico pode ser útil na avaliação de pacientes com ITUs do trato urinário inferiores recorrentes para descartar anomalias estruturais e anatómicas (DiBartola & Westropp, 2020). Nas infecções persistentes é importante procurar fatores predisponentes e garantir que o antimicrobiano está a alcançar as concentrações adequadas na bexiga de forma a eliminar a infecção, realizando uma revisão do antimicrobiano, esquema de dosagem e perfil de sensibilidade do microrganismo isolado (Weese, *et al.*, 2019).

O diagnóstico de prostatite bacteriana é baseado nos sinais clínicos, alterações laboratoriais, achados imagiológicos e cultura de urina ou secreções prostáticas (Westropp & Sykes, 2023). Devem ser realizados exames de diagnóstico imagiológicos como ecografia abdominal ou uretrocistografia para avaliar a próstata relativamente ao seu tamanho, presença de quistos e abscessos (DiBartola & Westropp, 2020).

O diagnóstico definitivo de pielonefrite é difícil e os sinais clínicos podem ser vagos (Weese, *et al.*, 2019). A presença de sinais clínicos sistémicos como febre ou leucocitose em associados a uma urocultura bacteriana positiva deve aumentar a sua suspeita (Westropp & Sykes, 2023). Tendo em conta que a pielonefrite pode ocorrer na ausência de cistite bacteriana, pode ser considerada a colheita de uma amostra de urina para cultura por pielocentese, especialmente se a cultura por cistocentese for negativa ou se não for possível a obtenção de urina por cistocentese (Weese, *et al.*, 2019).

Outros testes complementares de diagnóstico que, em adição à anamnese e exame físico, podem ser úteis no diagnóstico de ITU incluem ecografia abdominal, uretrocistoscopia, radiografia abdominal, urografia de excreção, cistografia de contraste e biópsia (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

1.6.1. Colheita de urina

A cistocentese é o método preferencial para a colheita de urina em caso de suspeita de ITU pois minimiza a probabilidade de contaminação da amostra (Bartges & Olin, 2017). Qualquer crescimento bacteriano presente nestas amostras é indicativo de infeção. Contudo, a maioria das amostras de uma ITU contém, no mínimo, 10^3 unidades formadoras de colónias (CFU, *colony forming units*) por mililitro (ml) (Cole & Rankin, 2023).

A colheita de urina por cistocentese pode ser realizada com o paciente sob contenção ou sedação ligeira e o procedimento pode ser ecoguiado. A posição do animal pode ser a de decúbito dorsal ou lateral ou em estação. A cistocentese inicia-se com a preparação asséptica do local. Com o animal em decúbito, palpa-se e estabiliza-se a bexiga com uma mão, empurrando-a em direção caudal contra o pavimento pélvico. Uma agulha de 21-23 gauge (G) é acoplada a uma seringa de 10ml e inserida na bexiga (idealmente em direção caudal e com um ângulo de 45° relativamente à parede da bexiga) através da linha média da parede abdominal. Num animal em estação, a colheita de urina deve ser realizada no lado direito (de forma a evitar a penetração do cólon descendente) enquanto a bexiga é pressionada do lado esquerdo para que fique posicionada o mais à direita possível do abdómen caudal. A penetração da bexiga deve ser realizada poucos centímetros cranialmente à junção da bexiga com a uretra. Quando a agulha atinge o lúmen da bexiga, é realizada a colheita de urina para a seringa e quando tiver sido colhida uma amostra de urina com uma quantidade suficiente (geralmente cinco mililitros, no mínimo), a agulha é retirada num só movimento. Deve-se manter a bexiga estável até à remoção da agulha do abdómen (Bexfield & Lee, 2014; Callens & Bartges, 2017). A cistocentese ecoguiada pode ser útil para determinar corretamente a posição da bexiga e avaliar a sua distensão e o espessamento da parede previamente à realização do procedimento (Manfredi, *et al.*, 2019).

As potenciais complicações desta técnica incluem a rotura da bexiga (se esta estiver muito distendida e traumatizada), uroabdómen como consequência de fuga de urina pelo orifício da punção na bexiga (Bexfield & Lee, 2014) e laceração de vasos de grande calibre se a contenção do animal não for devidamente realizada ou se a agulha for demasiado comprida para o tamanho do animal (Manfredi, *et al.*, 2019).

Se a cistocentese não for possível, a amostra de urina de cães machos pode ser colhida através da cateterização (Cole & Rankin, 2023). Este método de colheita de urina não é o ideal pois a amostra pode ficar contaminada (Bexfield & Lee, 2014), sendo relevantes apenas as contagens bacterianas a partir de 10^5 CFU/ml (Cole & Rankin, 2023).

Geralmente, os cães machos permitem a cateterização uretral sob contenção física leve. Contudo, a sedação pode ser necessária em alguns pacientes. O animal pode ser posicionado em decúbito lateral, com os membros posteriores afastados do prepúcio. Este deve ser higienizado com uma solução antisséptica com recurso a zaragatoa ou seringa (Bexfield & Lee, 2014). É fundamental manter a assepsia durante todo o processo de cateterização (Callens &

Bartges, 2017). Idealmente, deve ser feito um pequeno corte no invólucro estéril do cateter urinário para a saída do cateter, manuseando-o dentro do próprio invólucro. É exercida uma pequena pressão em torno da base do pênis, o prepúcio é retraído caudalmente de forma a expor a glândula do pênis e a ponta do cateter deve ser lubrificada e inserida na uretra. Quando o cateter atinge a zona da base do pênis, alivia-se a pressão em torno desta para permitir a continuação da passagem do mesmo. Uma vez no interior da bexiga, visualiza-se a entrada de urina no eixo central do cateter e avança-se dois centímetros adicionais. Por fim, realiza-se a colheita de urina (Bexfield & Lee, 2014).

Em fêmeas, a sedação pode ser necessária para realizar a cateterização uretral. O posicionamento pode ser em decúbito dorsal, com os membros posteriores imobilizados cranialmente, em decúbito lateral ou em decúbito esternal. A vulva é higienizada com uma solução antisséptica, removendo qualquer descarga e sujidade superficial. Tal como no procedimento em cães machos, faz-se um pequeno corte no invólucro estéril do cateter urinário para a saída do cateter, manuseando-o dentro do próprio invólucro. Insere-se um espéculo no vestíbulo e a sua ranhura deve ser posicionada ventralmente, permitindo a identificação do orifício uretral no chão do vestíbulo cranial. Lubrifica-se a ponta do cateter e insere-se a mesma no orifício uretral sob visualização direta e avança-se o cateter ao longo da uretra até à bexiga. Se o espéculo vaginal não estiver disponível, o cateter pode ser inserido utilizando a palpação digital da papila uretral. Coloca-se um lubrificante estéril hidrossolúvel no cateter e no dedo indicador do operador. O dedo lubrificado é inserido no vestíbulo e movido cranialmente, enquanto se aplica uma pressão ligeira no chão do vestíbulo. A papila uretral é palpada como uma fenda numa “protuberância” da mucosa. Enquanto se exerce uma leve pressão sobre a papila insere-se o cateter por baixo do dedo e direciona-se o mesmo para a uretra. Quando o cateter atinge a bexiga, realiza-se a colheita de urina (Bexfield & Lee, 2014).

Possíveis complicações desta técnica incluem trauma da uretra ou da bexiga e infeção iatrogénica do trato urinário (Bexfield & Lee, 2014).

As amostras por micção espontânea não são adequadas para a realização de urianálise e urocultura (DiBartola & Westropp, 2020) devido à contaminação bacteriana considerável que ocorre durante a colheita de amostras por este método (Bexfield & Lee, 2014).

1.6.2. Manuseamento de amostras de urina

O correto manuseamento das amostras de urina após a sua colheita é fundamental para evitar a contaminação, proliferação ou morte bacteriana. As amostras de urina destinadas a cultura bacteriana devem ser armazenadas e transportadas em recipientes esterilizados e selados (Bartges & Olin, 2017) e o seu processamento deve ser iniciado o mais brevemente possível (Bartges & Olin, 2017; Yadav, *et al.*, 2020). Se não for possível realizar a análise das

amostras imediatamente após a sua colheita, estas devem ser refrigeradas a quatro graus celsius (°C) (Wood, 2017) e analisadas dentro de 24h (Weese, *et al.*, 2019). Se as amostras de urina não forem refrigeradas, os leucócitos, eritrócitos e cristais podem ser destruídos em urinas hipotónicas ou alcalinas (Wood, 2017) e pode ocorrer multiplicação ou destruição bacteriana na primeira hora após a colheita (Bartges & Olin, 2017), levando a resultados falsos positivos e falsos negativos (Wood, 2017).

1.6.3. Urianálise

A urianálise deve ser realizada em todos os casos de suspeita de ITU, de forma a fornecer a informação que sustenta a suspeita de infeção e ainda detetar potenciais comorbilidades (como glicosúria e cristalúria) (Weese, *et al.*, 2019). Uma urianálise completa engloba a determinação da densidade específica da urina, análise da tira urinária e exame do sedimento urinário (Bartges & Olin, 2017). Os achados de urianálise em cães com ITU podem incluir isostenúria, piúria, hematória, proteinúria e bacteriúria (Westropp & Sykes, 2023).

A urina tem uma tonalidade amarela devido à presença do pigmento urocromo (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020). Quando muito concentrada, pode apresentar uma coloração amarelo-escura e, quando muito diluída, pode ser quase transparente. Uma urina vermelha-acastanhada pode resultar da presença de hemácias, hemoglobina ou mioglobina. Uma urina amarela-acastanhada ou amarela-esverdeada pode ser causada pela presença de bilirrubina (DiBartola & Westropp, 2020). Uma urina normal apresenta-se límpida (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020), já uma urina turva sugere a presença de células epiteliais, cristais, cilindros ou muco (Alleman & Wamsley, 2017). Um leve odor amoniacal na urina é considerado normal (Yadav, *et al.*, 2020), contudo, um odor forte a amónia é geralmente causado pela libertação de amónia por bactérias produtoras de urease (DiBartola & Westropp, 2020).

A densidade específica da urina é estimada através de um refratómetro e reflete a concentração urinária total (DiBartola & Westropp, 2020), sendo realizada para determinar a capacidade dos túbulos renais de conservar água e produzir urina concentrada (Alleman & Wamsley, 2017). Em animais com infeção do trato urinário, a densidade específica urinária é variável (Bartges & Olin, 2017). Quando a ITU envolve o trato urinário superior, a capacidade de concentração urinária pode estar afetada e, conseqüentemente, a densidade específica da urina pode estar diminuída (Weese, *et al.*, 2019).

A análise da tira urinária pode ser útil na avaliação de algumas propriedades químicas da urina como o pH, quantidade de proteína e sangue (Yadav, *et al.*, 2020), sendo importante referir que a tira urinária não é fiável na deteção de leucócitos ou nitritos em cães (Bartges & Olin, 2017). O pH da urina varia em função da dieta e do equilíbrio ácido-base (DiBartola &

Westropp, 2020). O valor de pH de uma urina normal de cães encontra-se no intervalo de referência entre 5.0 e 7.5. Uma urina alcalina (pH > 7.5) pode advir de uma ITU causada por bactérias produtoras de urease, que aumentam a concentração de amônia na urina (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020). A presença de proteína na urina é considerada normal até 50 mg/dl (DiBartola & Westropp, 2020) e a detecção de proteínas pela tira urinária é mais sensível à albumina. As causas patológicas mais frequentes do aumento da concentração de proteína na urina (proteinúria) são a inflamação ou infecção do trato urinário e hemorragia (Alleman & Wamsley, 2017). Uma proteinúria persistente, moderada ou elevada na ausência de um sedimento ativo é altamente sugestiva de doença glomerular. Se, por outro lado, a proteinúria for leve ou moderada e associada a um sedimento ativo, deve-se suspeitar de afeção inflamatória renal ou doença do trato urinário inferior (DiBartola & Westropp, 2020). A razão proteína/creatinina urinária (UPC, *urine protein/creatinine*) em cães com pielonefrite pode estar aumentada como resultado de dano tubular renal ou glomerular (Westropp & Sykes, 2023). A tira urinária é muito sensível na avaliação da presença de sangue, porém, não diferencia entre eritrócitos, hemoglobina e mioglobina. Como tal, um teste positivo deve ser interpretado com base nos achados do exame do sedimento urinário (DiBartola & Westropp, 2020).

O exame do sedimento urinário é mais útil no diagnóstico de ITU do que a tira urinária (Bartges & Olin, 2017), sendo realizado para detetar aumentos de concentração de células, cilindros, cristais e microrganismos (Alleman & Wamsley, 2017). O aumento de leucócitos na urina (piúria) em amostras de urina corretamente colhidas é indicativo de inflamação do trato urinário e é geralmente causado por uma ITU (DiBartola & Westropp, 2020). Na presença de sinais clínicos, a observação de bacteriúria acompanhada de piúria indica inflamação ativa do trato urinário associada a infecção bacteriana (Alleman & Wamsley, 2017; Bartges & Olin, 2017). A ausência microscópica de bactérias no sedimento não constitui um critério de exclusão de ITU (DiBartola & Westropp, 2020) pois numa urina diluída as bactérias podem ser mais difíceis de encontrar. Por outro lado, embora a detecção de bactérias no exame do sedimento urinário sugira ITU bacteriana, este achado deve ser verificado com urocultura (Bartges & Olin, 2017) já que pode ser observada bacteriúria no sedimento urinário por outros motivos (por exemplo, sobrecrescimento bacteriano após a colheita) (Alleman & Wamsley, 2017). O número excessivo de eritrócitos presentes na urina é denominado de hematúria, que pode ser macroscópica ou microscópica (DiBartola & Westropp, 2020). As causas de hematúria incluem ITU, inflamação, urolitíase, neoplasia e trauma do trato urinário que pode ocorrer como consequência de biopsia renal, colheita de urina por cistocentese ou cateterização, entre outras (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020). As células epiteliais de transição têm origem no urotélio desde a pélvis renal até à uretra e a sua observação no sedimento urinário pode ser normal. A presença de um elevado número destas células pode indicar infecção, irritação ou neoplasia do trato urinário. Os cilindros são estruturas cilíndricas, formadas nos túbulos renais, compostas por proteínas ou células agregadas e a observação de uma grande quantidade de cilindros

(cilindrúria) de leucócitos, pus ou células epiteliais no exame do sedimento urinário é sugestiva de pielonefrite (DiBartola & Westropp, 2020). A presença de cristais na urina (cristalúria), como cristais de estruvite, é frequente em cães, principalmente em urinas alcalinas (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). A observação de um número considerável de cristais de estruvite está frequentemente associada a ITUs causadas por bactérias produtoras de urease como *Staphylococcus* spp. ou *Proteus* spp. (Alleman & Wamsley, 2017; Westropp & Sykes, 2023).

1.6.4. Cultura bacteriana e teste de sensibilidade aos antimicrobianos

Um diagnóstico de ITU baseado apenas nos sinais clínicos e achados da urianálise não permite uma identificação precisa do organismo infetante nem a determinação da sua sensibilidade aos vários antimicrobianos, podendo levar a um tratamento inadequado (Bartges & Olin, 2017). A cultura bacteriana aeróbica de amostras de urina colhidas por cistocentese é o método definitivo pelo qual a infecção é confirmada (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023).

Idealmente deve ser realizada a cultura bacteriana de urina de todos os animais com suspeita de ITU (Weese, *et al.*, 2019) antes do início do tratamento com o antimicrobiano, pelo crescente nível de resistência antimicrobiana que tem sido identificada entre estirpes de *E. coli* isoladas de cães com infecções do trato urinário (Westropp & Sykes, 2023). Contudo, a terapêutica empírica com o antimicrobiano pode ser considerada previamente à obtenção do resultado da urocultura em cães com suspeita de cistite esporádica (Weese, *et al.*, 2019).

Em caso de cistite recorrente, está recomendada a realização de cultura de urina em todos os animais (Weese, *et al.*, 2019) e, se houver remoção de urólitos de um paciente com ITU recorrente, pode ser realizada uma cultura do urólito (Weese, *et al.*, 2019). A urocultura pode ainda ser considerada cinco a sete dias após a cessação da antibioterapia pois pode fornecer informação que auxilia a diferenciação entre infecção persistente, recaída e reinfeção (Wood, 2017; Weese, *et al.*, 2019). Se o microrganismo isolado do animal com infecção recorrente for diferente do organismo previamente isolado, a reinfeção é provável (Weese, *et al.*, 2019).

De uma forma geral, as bactérias presentes nas culturas de urina são as responsáveis pela prostatite bacteriana concomitante (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). No entanto, uma cultura de urina negativa não exclui a possibilidade de prostatite uma vez que os organismos isolados de uma amostra de urina podem diferir dos isolados da próstata (Westropp & Sykes, 2023). Pode ser necessária a realização de cultura de fluido prostático quando o resultado da urocultura é negativo ou quando os sinais clínicos persistem apesar do tratamento apropriado e baseado nos resultados do teste de sensibilidade aos

antimicrobianos (TSA) (DiBartola & Westropp, 2020). A cultura bacteriana aeróbica e o exame citológico devem ser realizados na terceira fração do ejaculado, no fluido colhido por cateterização uretral ou por massagem prostática ou no fluido prostático colhido por punção aspirativa por agulha fina ecoguiada (Weese, *et al.*, 2019).

A suspeita de pielonefrite aguda pode ser baseada numa urocultura positiva quando acompanhada de sintomatologia sistémica compatível com ITU do trato urinário superior. Porém, uma urocultura com resultado negativo não exclui a possibilidade de pielonefrite (Westropp & Sykes, 2023), podendo ser considerada a colheita de urina para cultura por pielocentese. As culturas sanguíneas são recomendadas em animais febris ou imunodeprimidos (Weese, *et al.*, 2019).

A cultura de urina pode ser qualitativa, identificando apenas o microrganismo presente ou quantitativa, permitindo a determinação do número de unidades formadoras de colónias (CFU) que crescem por mililitro de urina (Alleman & Wamsley, 2017; DiBartola & Westropp, 2020).

Os resultados obtidos da urocultura bacteriana dependem do método de colheita de urina (DiBartola & Westropp, 2020). Embora qualquer microrganismo isolado em amostras colhidas por cistocentese seja altamente significativo é possível a existência de contaminação cutânea, e, como tal, é necessária a presença de mais de 10^3 CFU/ml de bactérias para ser considerada clinicamente relevante (Westropp & Sykes, 2023). Um crescimento bacteriano inferior a 10^3 CFU/ml é sugestivo de contaminação (DiBartola & Westropp, 2020). Se a colheita da amostra de urina for realizada por cateterização, têm de estar presentes mais do que 10^4 CFU/ml em machos e mais de 10^5 CFU/ml em fêmeas para as contagens de colónias serem consideradas relevantes (Westropp & Sykes, 2023). A cultura bacteriana de amostras de urina colhidas por micção espontânea de cães saudáveis resulta frequentemente em crescimento bacteriano de 10^3 CFU/ml a 10^5 CFU/ml (DiBartola & Westropp, 2020). A presença de um grande número de bactérias ($>10^5$ CFU/ml) numa amostra de fluido prostático associada a uma resposta inflamatória sugere infeção (Westropp & Sykes, 2023).

A escolha da melhor opção terapêutica para o tratamento de uma ITU depende, frequentemente, do resultado do TSA (Gajic, *et al.*, 2022).

Os testes de sensibilidade aos antimicrobianos detetam a morte ou a inibição do crescimento bacteriano na presença de um fármaco antimicrobiano e podem fornecer informação qualitativa (classificam o microrganismo como sensível (S), intermédio (I) ou resistente (R)) ou quantitativa (determinam a concentração inibitória mínima (MIC, *minimal inhibitory concentration*) (Wenzler, *et al.*, 2023).

Em 2019 foram introduzidas, pelo Comité Europeu de Avaliação de Suscetibilidade Antimicrobiana (EUCAST, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), duas categorias de sensibilidade (S e I) e uma categoria de resistência (R) (EUCAST, 2019).

A categoria S classifica o microrganismo como “sensível em esquema de dosagem padrão” quando há uma grande probabilidade de sucesso no tratamento utilizando uma dosagem padrão do fármaco (EUCAST, 2019).

A categoria I classifica o microrganismo como “sensível com exposição aumentada” quando há uma grande probabilidade de sucesso no tratamento se a exposição ao fármaco for aumentada (ajustando o esquema de dosagem que causará um aumento da concentração do fármaco no local da infecção) (EUCAST, 2019). Para alcançar sucesso terapêutico com a categoria I, devem ser utilizadas doses elevadas de antimicrobiano, o intervalo entre administrações deve ser reduzido ou a via de administração deve ser alterada (infusões contínuas ou prolongadas podem ser implementadas, por exemplo). Os antimicrobianos em ambas as categorias S e I contribuem para o mesmo grau de eficácia clínica (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

A categoria R classifica o microrganismo como “resistente” quando há uma grande probabilidade de insucesso no tratamento, mesmo quando a exposição é aumentada (EUCAST, 2019).

Os métodos de TSA mais amplamente utilizados são o teste da difusão em disco (fornece um resultado qualitativo) e o teste da microdiluição em meio líquido (fornece um resultado quantitativo) (Gajic, *et al.*, 2022).

O teste da difusão em disco (também conhecido como teste de Kirby-Bauer) é realizado em placas de agar inoculadas com uma suspensão bacteriana do microrganismo a testar, onde são colocados discos de papel impregnados com uma concentração padronizada dos diferentes antimicrobianos a testar. Estes difundem-se radialmente pelo agar, resultando numa zona circular de inibição de crescimento bacteriano em torno do disco (Gajic, *et al.*, 2022; Cole & Rankin, 2023; Wenzler, *et al.*, 2023). As placas são incubadas a 35±1°C e, após 24h (Gajic, *et al.*, 2022), a zona de inibição bacteriana é medida em milímetros (Gajic, *et al.*, 2022; Wenzler, *et al.*, 2023). Esta medição é então traduzida numa categoria de sensibilidade (Cole & Rankin, 2023; Wenzler, *et al.*, 2023). O teste da difusão em disco é um método fiável, de baixo custo e fácil execução, todavia, possui a desvantagem de não fornecer um MIC, que pode ser crucial para a otimização da dose do antimicrobiano em certas situações (Gajic, *et al.*, 2022; Wenzler, *et al.*, 2023).

O teste de microdiluição em meio líquido permite a determinação do MIC de um agente antimicrobiano (Gajic, *et al.*, 2022). O MIC é definido como a concentração mais baixa de um fármaco antibacteriano capaz de inibir completamente o crescimento visível de um microrganismo, *in vitro* (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021). Para a realização do teste de microdiluição em meio líquido são utilizadas placas de titulação com 96 poços, que permitem a testagem de diferentes fármacos antimicrobianos em diluições seriadas. É inoculada uma suspensão bacteriana do microrganismo a testar nos poços da placa de titulação previamente preparada com as diluições dos antimicrobianos a testar (Gajic, *et al.*, 2022; Wenzler, *et al.*, 2023) e as placas devem ser incubadas durante 16-24h (Gajic, *et al.*, 2022; Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021). Após o período de incubação, o MIC é determinado através de uma avaliação visual da turbidez (indicador de crescimento

bacteriano), sendo o seu valor correspondente à diluição mais baixa do antimicrobiano na qual o crescimento bacteriano não é visível (Wenzler, *et al.*, 2023).

1.6.5. Ecografia abdominal

A ecografia do trato urogenital é um exame complementar de diagnóstico não invasivo que permite obter informação sobre a extensão e severidade da doença e detetar causas subjacentes de ITU, como neoplasia ou cálculos urinários (Westropp & Sykes, 2023). É útil na exclusão de defeitos estruturais e anatómicos em pacientes com cistite recorrente (DiBartola & Westropp, 2020), facilita a colheita de urina por cistocentese e possibilita a obtenção de biópsias da mucosa da bexiga, caso seja necessário (Weese, *et al.*, 2019). A ecografia renal permite a identificação das diferentes estruturas anatómicas do rim, como a cápsula renal, córtex, medula e seio renal e a avaliação da forma, ecogenicidade, arquitetura e dimensão dos rins (por comparação com o diâmetro do lúmen da aorta) (Pollard & Phillips, 2017; DiBartola & Westropp, 2020).

O exame ecográfico da bexiga em cães com cistite bacteriana pode não apresentar alterações ou revelar um espessamento leve a moderado da parede vesical e uma ecogenicidade aumentada da bexiga. Os cálculos são detetados como focos hiperecóticos e podem originar uma sombra acústica (Pollard & Phillips, 2017; Westropp & Sykes, 2023).

Os cães com pielonefrite podem apresentar pielectasia, contorno renal irregular e hidronefrose. Quando a pielonefrite é severa podem-se encontrar elementos hiperecóticos na pélvis renal e esta pode apresentar-se anecóica com fragmentos hiperecóticos (Westropp & Sykes, 2023). Achados imagiológicos como aumento da ecogenicidade do córtex renal, diminuição da definição corticomedular, dilatação da pélvis renal e/ou necrose da papila renal podem ser detetados, mas são inespecíficos (Weese, *et al.*, 2019; Westropp & Sykes, 2023).

É recomendada a avaliação ecográfica da próstata para caracterizar o seu tamanho e estrutura e para identificar alterações consistentes com abscessos ou quistos (Weese, *et al.*, 2019). Na presença de prostatite bacteriana, a ecografia pode estar normal ou a próstata pode apresentar um aumento de tamanho, ecogenicidade heterogénea e acumulações focais de fluido anecogénico ou hipocogénico (na presença de quistos prostáticos ou abscessos) (Pollard & Phillips, 2017; Westropp & Sykes, 2023).

1.6.6. Uretrocistoscopia

A uretrocistoscopia é uma técnica que permite o acesso ao trato geniturinário inferior (uretra, bexiga, orifícios ureterais e vagina). É considerado um procedimento minimamente

invasivo, contudo, requer anestesia geral para minimizar o movimento do paciente e lesões iatrogênicas secundárias no trato urinário inferior (Morgan & Forman, 2015). A avaliação cistoscópica do trato urinário inferior pode revelar anomalias anatômicas que podem predispor o paciente a ITUs recorrentes como ureteres ectópicos, neoplasias, urólitos, estenose vestibulo-vaginal e divertículo uracal (Adams, 2017). Adicionalmente, permite a realização de biópsias para citologia, histopatologia e cultura bacteriana (Adams, 2017) e ainda a remoção de urólitos (presentes na uretra ou na bexiga) que também podem ser submetidos a cultura bacteriana (DiBartola & Westropp, 2020).

A cistoscopia é realizada com o auxílio de um cistoscópio que pode ser rígido ou flexível. Os cistoscópios flexíveis são os mais adequados para a cistoscopia em machos devido à sua anatomia uretral e os cistoscópios rígidos são utilizados em fêmeas (Adams, 2017). A maioria dos cistoscópios rígidos é composta pelo telescópio interno, que permite a condução de luz e imagem e pela bainha externa que, além de proteger o telescópio, possui portas e canais para a instilação de líquido estéril (ou gás), drenagem de urina e passagem de pinças de biópsia (Morgan & Forman, 2015).

O procedimento deve ser realizado sob anestesia geral. Os pelos da região perivulvar das fêmeas e em torno do prepúcio dos machos são cortados e a área deve ser higienizada com uma solução antisséptica (Adams, 2017). Em fêmeas, a cistoscopia deve ser realizada em decúbito dorsal por permitir um melhor acesso aos orifícios ureterais e por diminuir o risco de contaminação fecal da vulva (Morgan & Forman, 2015), embora também possa ser realizada em decúbito lateral ou ventral (Adams, 2017). Em machos, o decúbito lateral é o posicionamento mais frequentemente utilizado, porém, o decúbito dorsal permite uma visualização mais completa dos orifícios ureterais (Morgan & Forman, 2015).

Na uretrocistoscopia em fêmeas, o cistoscópio rígido deve ser lubrificado com gel lubrificante estéril antes de ser introduzido na abertura vestibular. A vulva é retraída caudalmente e o cistoscópio é então introduzido, realizando-se a avaliação completa da abertura vestibular. Direciona-se o cistoscópio para o orifício uretral, irriga-se a uretra com uma solução salina e progride-se o cistoscópio através da uretra até alcançar a bexiga (Morgan & Forman, 2015). Uma vez na bexiga, o cistoscópio é centrado no lúmen da bexiga, realiza-se o esvaziamento da mesma e, de seguida, o seu preenchimento com uma solução salina estéril. Este procedimento é repetido até que a parede da bexiga seja adequadamente visualizada e avaliada (Adams, 2017). Além da parede da bexiga, avaliam-se também os orifícios ureterais. Por fim, o cistoscópio é retirado da uretra, de forma gradual.

Na uretrocistoscopia em machos, a bexiga é esvaziada utilizando um cateter de borracha conectado a uma seringa de 60 ml antes do procedimento (Morgan & Forman, 2015). O pênis é exteriorizado e o cistoscópio flexível é introduzido no orifício uretral (Adams, 2017). Realiza-se a irrigação da uretra com uma solução salina, através do cistoscópio e este é avançado até à bexiga. Uma vez na bexiga, a solução salina é infundida novamente para distender o lúmen da

bexiga e permitir a sua avaliação. Após a avaliação da bexiga e dos orifícios ureterais, o cistoscópio é retirado da uretra (Morgan & Forman, 2015).

1.6.7. Pielocentese

O diagnóstico definitivo de pielonefrite apenas pode ser alcançado através de uma cultura bacteriana positiva de urina colhida por pielocentese (van Dongen, 2017), que pode ser realizada quando existe dilatação pélvica suficiente para a obtenção de urina (Westropp & Sykes, 2023). A pielocentese percutânea ecoguiada permite a colheita de urina diretamente da pélvis renal para exame citológico e cultura bacteriana (Etedali, *et al.*, 2019). Para realizar o procedimento, o animal é sedado, os pelos do abdómen ventral são cortados e a área é assepticamente higienizada. Numa abordagem ventrolateral, é inserida uma agulha na pélvis renal sob orientação ecográfica e geralmente são colhidos 1-2 ml de urina (Pollard & Phillips, 2017).

1.6.8. Radiografia abdominal e urografia de excreção

A radiografia abdominal possui a vantagem de fornecer informação relativamente à dimensão, forma, localização, posição e opacidade dos rins e da bexiga (Pollard & Phillips, 2017).

A projeções radiográficas laterais fornecem uma melhor visualização da bexiga, por existir uma menor sobreposição. Poderá ser necessária uma projeção latero-lateral adicional para avaliar a presença de cálculos urinários uretrais em cães machos, na qual os membros posteriores são movidos cranialmente para evitar a sobreposição da uretra peniana (Pollard & Phillips, 2017). De uma forma geral, a bexiga de cães com cistite bacteriana esporádica não apresenta alterações radiográficas, contudo, podem ser detetados cálculos urinários (Westropp & Sykes, 2023).

De forma a obter uma avaliação renal completa são necessárias três projeções radiográficas: latero-lateral direita, latero-lateral esquerda e ventrodorsal (VD) (Rademacher, 2018). A projeção latero-lateral direita maximiza a visualização renal ao permitir que o rim esquerdo deslize cranialmente diminuindo a sobreposição dos rins (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018). A projeção latero-lateral esquerda diminui as alterações posicionais, provocadas pela posição do corpo durante o exame, que podem alterar a interpretação da dimensão renal. A projeção VD permite a avaliação individual dos rins, embora possa ser difícil a sua visualização na totalidade pela sobreposição das vísceras abdominais que pode ocorrer devido à posição do animal (Pollard & Phillips, 2017). A dimensão renal pode ser avaliada por

comparação a algumas estruturas anatómicas vizinhas, sendo mais a frequente a segunda vértebra lombar (L2) na projeção VD (DiBartola & Westropp, 2020). Os rins de cães saudáveis têm um comprimento entre 2.5 a 3.5 vezes o comprimento do corpo da L2 (Rademacher, 2018). A radiografia renal pode não apresentar alterações na dimensão renal em animais com pielonefrite (Pollard & Phillips, 2017), contudo, pode revelar renomegalia em cães com pielonefrite aguda ou rins com dimensão reduzida se a pielonefrite for crónica (Westropp & Sykes, 2023). Podem também ser detetados cálculos renais no exame radiológico (Pollard & Phillips, 2017).

A urografia de excreção é útil na avaliação da dimensão, forma e localização renal, roturas do trato urinário superior, defeitos de preenchimento na pélvis renal ou ureteres e no diagnóstico de pielonefrite aguda (DiBartola & Westropp, 2020), sendo o método preferencial no diagnóstico de ureteres ectópicos (Rademacher, 2018). O procedimento consiste na realização de radiografias abdominais sequenciais após a administração intravenosa (IV) de um meio de contraste iodado que, ao ser filtrado e excretado pelos rins (DiBartola & Westropp, 2020), resulta na opacificação do parênquima e pélvis renal, ureteres e bexiga (Rademacher, 2018). De forma a minimizar o risco de reações adversas, é aconselhado o uso de um contraste iodado não iónico como o iopamidol ou iohexol (Pollard & Phillips, 2017) pela sua baixa osmolaridade (Rademacher, 2018). Em cães com pielonefrite, a urografia de excreção pode revelar uma leve dilatação da pélvis renal e defeitos de preenchimento no ureter proximal que representam detritos aglomerados (Pollard & Phillips, 2017).

A urografia de excreção pode ser dividida nas seguintes fases: nefrograma e pielograma (Pollard & Phillips, 2017). A fase do nefrograma consiste na opacificação uniforme de ambos os rins e ocorre praticamente imediatamente após a administração do contraste. Na fase do pielograma, a pélvis renal e os ureteres devem ser visíveis a partir dos cinco até aos 45 minutos. A bexiga é avaliada, preferencialmente, nas radiografias entre os 30 e os 40 minutos (Rademacher, 2018).

Para a realização do exame é necessário um jejum de 12-24h, a realização de um enema e a avaliação da função renal previamente ao estudo e os pacientes devem estar sedados ou sob anestesia geral (Rademacher, 2018). O meio de contraste deve ser administrado por via IV a uma dose de 880mg/kg (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018). A primeira radiografia é realizada imediatamente após a administração do meio de contraste na projeção VD, após cinco minutos repete-se a projeção VD e realiza-se uma latero-lateral direita, após 10 a 15 minutos realiza-se novamente as projeções VD e latero-lateral direita e, por fim, uma VD e uma latero-lateral direita entre 30 a 40 minutos após a administração do contraste (Rademacher, 2018; DiBartola & Westropp, 2020).

1.6.9. Cistografia e uretrografia de contraste

A cistografia de contraste é um exame de diagnóstico útil na determinação da localização e integridade da bexiga, na avaliação da espessura da parede da bexiga e na detecção de cálculos radiolúcentes (Pollard & Phillips, 2017). Os meios de contraste utilizados podem ser positivos ou negativos (Rademacher, 2018). Em animais com cistite, a cistografia de contraste pode revelar um espessamento da parede da bexiga e irregularidades na superfície da mucosa vesical (Pollard & Phillips, 2017).

Para a realização da cistografia de contraste positivo, o animal deve ser submetido a anestesia geral ou sedação e analgesia de forma a diminuir o desconforto e facilitar a manipulação do mesmo (Pollard & Phillips, 2017). A abertura uretral externa é higienizada e é inserido um cateter urinário de forma asséptica. A bexiga é então esvaziada para posteriormente ser inserido um meio de contraste iodado, através do cateter (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018). Não é necessária uma concentração precisa do contraste, sendo suficiente uma concentração de 50-100 mg/ml. Tendo em consideração que, em animais saudáveis, a capacidade da bexiga é de aproximadamente 5ml/kg, este deverá ser o volume a ser infundido (Pollard & Phillips, 2017). Devem ser realizadas radiografias nas projeções latero-lateral, VD e duas oblíquas a 45°. As projeções oblíquas permitem uma melhor avaliação da parede da bexiga (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018).

A cistografia de contraste negativo é útil na localização das terminações dos ureteres. O procedimento é idêntico ao da cistografia de contraste positivo, contudo, o meio de contraste iodado é substituído por gás (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018).

A cistografia de contraste duplo utiliza um meio de contraste iodado e gás e permite a avaliação da parede e do lúmen da bexiga (Pollard & Phillips, 2017). É uma técnica útil em caso de suspeita de cálculos radiolúcentes, neoplasias ou pólipos na bexiga, cistite crónica e divertículos vesicouracais (Rademacher, 2018). Embora este procedimento forneça mais informação do que os outros estudos imagiológicos de contraste, tem sido substituído pela ecografia abdominal pela sua melhor resolução e por ser não invasiva (Pollard & Phillips, 2017).

A uretrografia utiliza um meio de contraste positivo para examinar a integridade, localização, mucosa e lúmen da uretra. Deteta defeitos de preenchimento focais ou multifocais provocados por cálculos uretrais (Pollard & Phillips, 2017; Rademacher, 2018), anomalias anatómicas e lesões uretrais (Westropp & Sykes, 2023). Está indicada quando existe suspeita de rotura uretral, cálculos uretrais, uretrite ou neoplasia uretral (Rademacher, 2018). O extravasamento de contraste para a próstata durante uma uretrocistografia de contraste sustenta um diagnóstico de prostatite bacteriana ou neoplasia prostática (Westropp & Sykes, 2023).

1.6.10. Biópsia

Caso haja persistência de sinais clínicos apesar dos resultados negativos das uroculturas, pode ser considerada a realização de uma biópsia da mucosa da bexiga durante a cistoscopia. A amostra colhida por biópsia pode ser submetida a cultura e histopatologia de forma a identificar o agente infeccioso (Weese, *et al.*, 2019). As bactérias uropatogênicas possuem a capacidade de persistir profundamente nos tecidos, o que lhes confere proteção dos efeitos antimicrobianos da urina. Estas bactérias podem não ser identificadas durante a urianálise por poderem ser libertadas intermitentemente na urina (Sycamore, *et al.*, 2014).

Um estudo realizado em 2014 permitiu a comparação entre os microrganismos identificados através de uroculturas aeróbicas e os microrganismos isolados em culturas de amostras obtidas por biópsia, numa população de 40 cães. Neste estudo, houve uma correlação positiva considerável entre as espécies bacterianas encontrada nas amostras de urina e nas amostras por biópsia, indicando que, na grande maioria dos casos, as amostras obtidas por biópsia da mucosa da bexiga não fornecem informação adicional relativamente às uroculturas. Os resultados do estudo não revelaram benefício em realizar a cultura de amostras obtidas por biópsia, já que as culturas positivas de biópsias face a uroculturas negativas ocorreu em menos de 5% dos casos. Contudo, alguns cães com uroculturas negativas apresentaram culturas de biópsias positivas e, como tal, em alguns casos pode ser vantajosa a obtenção de biópsias para cultura (Sycamore, *et al.*, 2014).

1.7. Tratamento

Os antimicrobianos são a base do tratamento da ITU bacteriana (Bartges & Olin, 2017; Blondeau & Fitch, 2021). O fármaco selecionado deve ser de fácil administração, estar associado a efeitos adversos mínimos, ter um custo acessível, ser capaz de atingir concentrações que excedam a concentração inibitória mínima do agente patogénico pelo menos quatro vezes e ter baixa probabilidade de afetar negativamente a flora gastrointestinal do animal. O objetivo do tratamento é a diminuição da carga bacteriana de forma a controlar os sinais clínicos, para que o sistema imunitário possa eliminar os restantes microrganismos (Bartges & Olin, 2017). Uma antibioterapia bem-sucedida depende da escolha apropriada do antimicrobiano, incluindo a sua dose, frequência e duração (Foster, 2020). Os fármacos recomendados pela ISCAID para o tratamento de ITU, serão apresentados na Tabela 1, assim como as respetivas dosagens e indicações. Sempre que possível, a administração de um antimicrobiano em terapia empírica deve ser precedida pela recolha de amostras para cultura e os resultados desta devem ser a base para a verificação das decisões terapêuticas

preliminares e para a aplicação de uma terapia dirigida (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) devem ser incluídos no tratamento inicial da ITU para aliviar os sinais clínicos e, dependendo da severidade destes, pode ser considerado o seu uso exclusivo enquanto se aguarda pelos resultados da urocultura (Weese, *et al.*, 2019; Westropp & Sykes, 2023).

Atualmente não existe evidência científica que comprove a eficiência ou utilidade de tratamentos adjuvantes com extrato de arando (suplemento nutricional) ou metenamina (antisséptico) no tratamento de cistite bacteriana (Weese, *et al.*, 2019).

1.7.1. Cistite bacteriana esporádica

O tratamento de ITUs bacterianas esporádicas pode ser iniciado sem o resultado da urocultura (Bartges & Olin, 2017; Allerton, *et al.*, 2021), desde que o animal não tenha sido submetido a antibioterapia nas seis semanas anteriores e a ITU seja uma ocorrência ocasional (Bartges & Olin, 2017). Contudo, a cultura de urina e o TSA podem ser realizados para confirmar o envolvimento bacteriano e otimizar a seleção do antimicrobiano (Allerton, *et al.*, 2021). Os sinais clínicos devem melhorar em 48h após o início da antibioterapia (Weese, *et al.*, 2019; Foster, 2020). Se não se constatar uma melhoria dos sinais clínicos, deve ser considerada outra causa subjacente como urolitíase, neoplasia ou um microrganismo resistente (Foster, 2020).

A escolha empírica do antimicrobiano varia consoante os microrganismos envolvidos e os padrões de resistência na região (Weese, *et al.*, 2019). Embora o tratamento empírico seja muitas vezes eficaz em pacientes com ITU esporádica, o tratamento repetido sem urocultura e TSA podem levar a uma escolha incorreta do antimicrobiano, efeitos adversos desnecessários e à potencial seleção de bactérias resistentes (Foster, 2020).

Os fármacos recomendados para o tratamento de cistite bacteriana esporádica incluem beta-lactâmicos (incluindo cefalosporinas), fluoroquinolonas, doxiciclina e trimetoprim-sulfadiazina/sulfametoxazol (Blondeau & Fitch, 2021).

Atualmente, os antimicrobianos de primeira linha para terapia empírica de ITUs em cães são amoxicilina, amoxicilina e ácido clavulânico e trimetoprim-sulfonamidas (Bartges & Olin, 2017; Weese, *et al.*, 2019; Foster, 2020; Blondeau & Fitch, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022).

Não existem evidências científicas que comprovem a vantagem da amoxicilina e ácido clavulânico comparativamente à amoxicilina isolada no tratamento de ITUs (Bloch, *et al.*, 2022), mesmo em infeções com bactérias produtoras de beta-lactamases, devido às concentrações de amoxicilina que são atingidas na urina. Apesar das sulfonamidas e o trimetoprim estarem

associados a maiores efeitos adversos, a probabilidade de estes ocorrerem é baixa com períodos terapêuticos curtos (Weese, *et al.*, 2019).

Se a cultura inicial indicar resistência ao antimicrobiano empírico escolhido ou não houver resposta clínica positiva, a antibioterapia inicial deverá ser descontinuada e deve ser instituído um tratamento com um fármaco alternativo (Weese, *et al.*, 2019), como nitrofurantoína (Weese, *et al.*, 2019; Yudhanto, *et al.*, 2022), fluoroquinolonas (Weese, *et al.*, 2019) ou cefalosporinas de terceira geração (Olin & Bartges, 2015; Weese, *et al.*, 2019; Yudhanto, *et al.*, 2022). Estes fármacos podem ser eficazes, porém, não são frequentemente necessários e o seu uso em animais é escrutinado devido a questões relacionadas com a resistência antimicrobiana e a saúde pública (Weese, *et al.*, 2019).

Idealmente, se forem isoladas múltiplas bactérias deve ser escolhido um antimicrobiano eficaz contra todos os patógenos isolados. Se tal não for possível, deve ser considerada uma terapia combinada com vários antimicrobianos (Bartges & Olin, 2017).

Atualmente, a duração recomendada para o tratamento de ITU foi reduzida para três a cinco dias (Weese, *et al.*, 2019; Foster, 2020; Blondeau, *et al.*, 2021).

Foi demonstrado, em pelo menos dois estudos em cães, que uma terapia de curta duração não é menos eficaz do que tratamentos de longa duração. Clare *et al.* (2014) apurou que três dias de terapia com trimetoprim-sulfametoxazol (15 mg/kg a cada 12h (q12h) *per os* (PO)) foram equivalentes a dez dias de cefalexina (20mg/kg q12h PO) em 38 fêmeas com ITU. Um outro estudo, realizado por Westropp *et al.*, (2012), revelou que três dias de tratamento com enrofloxacin (18-20mg/kg q24h PO) não foram menos eficazes do que o tratamento de 14 dias com amoxicilina e ácido clavulânico (13.75-25 mg/kg q12h PO) em animais saudáveis, excetuando a evidência clínica de cistite (Jessen, *et al.*, 2014; Blondeau, *et al.*, 2021).

Estes estudos demonstram que a cura clínica e microbiológica eficaz pode ser alcançada, em casos de cistite esporádica, com tratamentos de curta duração, pelo menos para estes fármacos em particular. Achados de pesquisas anteriores e a extrapolação da atual prática em medicina humana justificam a adoção de períodos de tratamento mais curtos (Allerton, *et al.*, 2021). Todavia, os estudos supracitados não examinam especificamente o efeito da duração da antibioterapia uma vez que ambos comparam a curta duração de um fármaco com a duração padrão de um fármaco diferente. Embora forneçam comparações válidas de regimes específicos de tratamento, não ajudam a estabelecer uma duração ideal de tratamento para nenhum dos fármacos testados (Jessen, *et al.*, 2014).

Tabela 1. Principais fármacos recomendados para o tratamento de ITU (Adaptado de Weese, et al., 2019).

Antimicrobiano	Dose	Comentários
Amicacina	15-30mg/kg IV/IM/SC q24h	Não é recomendada para uso como primeira escolha. Pode ser útil no tratamento de organismos multirresistentes.
Amoxicilina	11-15mg/kg PO q8-12h	É uma boa opção de primeira linha em cistite bacteriana esporádica. <i>Klebsiella</i> spp é resistente.
Amoxicilina e ácido clavulânico	12,5-25mg/kg PO q12h	Escolha empírica razoável quando os dados de sensibilidade regionais sustentam uma elevada prevalência de resistência a amoxicilina e sensibilidade a amoxicilina e ácido clavulânico.
Cefovecina	8mg/kg SC injeção única. Pode ser repetida uma vez após 7-14 dias	Maior duração e espectro mais largo do que o tipicamente necessário, não sendo recomendado para uso como primeira escolha. Deve ser utilizada somente em casos em que o tratamento PO não é possível. <i>Enterococcus</i> é resistente.
Cefpodoxima proxetil	5-10mg/kg PO q24h	Mais ativo do que cefalexina ou cefadroxil contra <i>Enterobacteriaceae</i> . <i>Enterococcus</i> spp são resistentes.
Ceftiofur	2mg/kg q12-24h SC	Aprovado para tratamento de cistite bacteriana em algumas regiões. <i>Enterococcus</i> spp são resistentes.
Cefalexina, cefadroxil	12-25mg/kg PO q12h	Estreito espectro de ação, não são ativos contra <i>Enterobacteriaceae</i> . <i>Enterococcus</i> são resistentes.
Cloranfenicol	40-50mg/kg PO q8h	Reservado para infecções com organismos multirresistentes com poucas opções alternativas.
Ciprofloxacina	25-30mg/kg PO q24h	Biodisponibilidade mais baixa e variável do que as outras fluoroquinolonas. Não recomendada em prostatite.
Doxiciclina	5mg/kg PO q12h	Reservada para infecções causadas por patógenos resistentes a fármacos que são ativamente excretados na urina na sua forma ativa.
Enrofloxacina	5-20mg/kg PO q24h	Reservada para infecções resistentes, mas uma boa escolha de primeira linha para pielonefrite e prostatite na dose mais alta. Não recomendado para <i>Enterococcus</i> spp.
Fosfomicina	40mg/kg PO (com alimento) q12h	Deve ser reservada para infecções multirresistentes. Potencial opção para pielonefrite e prostatite q8h.

(Continuação da tabela 1)

Imipenem-cilastatin	5mg/kg IV/IM q6-8h	Reservado para tratamento de infecções multirresistentes, particularmente infecções provocadas por <i>Enterobacteriaceae</i> produtoras de ESBL ou <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Enterococcus faecium</i> é inerentemente resistente.
Levofloxacina	25mg/kg PO q24h	Biodisponibilidade oral alta.
Marbofloxacina	2,7-5,5mg/kg PO q24h	Reservada para infecções resistentes. Boa escolha de primeira linha para pielonefrite e infecções que envolvem a próstata. Não recomendado para <i>Enterococcus</i> spp.
Meropenem	8,5mg/kg SC/IV q12h (SC) ou q8h (IV)	Reservado para tratamento de infecções multirresistentes, particularmente infecções provocadas por <i>Enterobacteriaceae</i> produtoras de ESBL ou <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . <i>Enterococcus faecium</i> é inerentemente resistente.
Nitrofurantoína	4,4-5mg/kg PO q8h	Opção para cistite bacteriana esporádica, particularmente quando organismos multirresistentes estão envolvidos. Não deve ser utilizada em caso de pielonefrite.
Orbifloxacina	2,5-7,5mg/kg PO q24h	Reservada para infecções resistentes. Boa escolha de primeira linha para pielonefrite e infecções que envolvem a próstata. Não recomendado para <i>Enterococcus</i> spp.
Pradofloxacina	3-5mg/kg PO q24h	Maior atividade contra algumas bactérias do que fluoroquinolonas mais antigas (enrofloxacina, marbofloxacina, orbifloxacina). Teoricamente uma boa escolha de primeira linha para pielonefrite. Não recomendada para <i>Enterococcus</i> spp.
Trimetoprim-sulfazidina/ Trimetoprim-sulfametoxazol/ Ormetoprim-sulfadimetoxina	15-30mg/kg PO q12h	Opção inicial ou empírica apropriada. Existem preocupações relativas a efeitos adversos idiossincráticos e imunomediados. A atividade contra <i>Enterococcus</i> spp na urina é controversa. Pode ser considerado como tratamento para infecções prostáticas.

IV-intravenoso, IM-intramuscular, SC-subcutâneo, PO-*per os*, ESBL-Beta-Lactamases de Espectro Alargado, Multirresistente - resistência a três ou mais classes antimicrobianas).

1.7.2. Cistite bacteriana recorrente

O antimicrobiano deve ser escolhido consoante a urocultura e o TSA. Contudo, a antibioterapia empírica pode ser iniciada com amoxicilina, amoxicilina e ácido clavulânico ou trimetoprim-sulfonamidas (Weese, *et al.*, 2019; Yudhanto, *et al.*, 2022). Se a antibioterapia empírica tiver sido iniciada, deve ser reavaliada a escolha do antimicrobiano aquando da obtenção do resultado da urocultura (Weese, *et al.*, 2019).

O primeiro objetivo do tratamento é a cura clínica do animal com efeitos adversos mínimos (incluindo resistência antimicrobiana). Já a cura microbiológica (eliminação do microrganismo infetante) apesar de desejada, não é necessariamente alcançável ou requerida para a resolução médica a curto ou longo prazo (Weese, *et al.*, 2019).

As recomendações para a duração do tratamento da cistite bacteriana recorrente são difíceis de estabelecer. Os tratamentos de curta duração (três a cinco dias) devem ser considerados para reinfeções. Períodos mais longos (sete a catorze dias) podem ser razoáveis em infeções persistentes ou potenciais recaídas, se houver suspeita de presença de fatores que inibem a resposta aos antimicrobianos, como invasão da parede vesical. Nestas situações, os fármacos que são ineficazes contra a *E. coli* no tecido (como amoxicilina e ácido clavulânico) devem ser evitados. Em tratamentos de longa duração, a cultura urinária pode ser considerada após cinco a sete dias de tratamento. Culturas positivas indicam se há necessidade de testes diagnósticos adicionais para determinar o motivo pelo qual o agente infeccioso não foi eliminado (Weese, *et al.*, 2019).

1.7.3. Pielonefrite

O tratamento de pielonefrite deve ser iniciado imediatamente (Weese, *et al.*, 2019), com posterior reavaliação baseada nos resultados da cultura e do TSA (Bartges & Olin, 2017). A pielonefrite aguda pode exigir hospitalização para antibioterapia parenteral e terapia de suporte com fluidos IV até o animal conseguir ingerir alimento e água de forma normal e a melhoria da azotémia deixar de ser visível com terapia intensiva (Olin & Bartges, 2015).

A terapia inicial deve incluir fármacos antimicrobianos conhecidos por serem eficazes contra *Enterobacteriaceae* (Weese, *et al.*, 2019). Fluoroquinolonas ou cefpodoxima são primeiras escolhas razoáveis (Bartges & Olin, 2017; Weese, *et al.*, 2019; Foster, 2020). Cefotaxima e ceftazidima são opções para administração IV. Se a suspeita for de disseminação hematogena, a terapia inicial deve ser baseada em culturas sanguíneas ou do foco de infeção (Weese, *et al.*, 2019).

A antibioterapia oral é recomendada em animais que aparentam estar sistemicamente bem e com apetite normal. Já a terapia IV está indicada para animais que estão desidratados, com hiporexia/anorexia ou letárgicos (Weese, *et al.*, 2019).

Deve ser considerado um diagnóstico diferente de pielonefrite se não houver melhoria nos sinais sistêmicos, hematologia ou bioquímicas séricas nas primeiras 72h de terapia antimicrobiana. A recomendação da duração do tratamento é de 10-14 dias. Deve ser feita uma reavaliação, incluindo exame físico, concentrações séricas de creatinina, urianálise e cultura urinária, uma a duas semanas após o término da antibioterapia. O isolamento da mesma espécie bacteriana identificada inicialmente, pode indicar resistência antimicrobiana, urolitíase, anomalias anatómicas ou déficit imunitário (Weese, *et al.*, 2019).

1.7.4. Prostatite bacteriana

A prostatite bacteriana aguda pode levar a sépsis e morte e a fluidoterapia é fundamental para corrigir a desidratação (Davidson, 2017). A barreira hemato-prostática reduz a penetração de vários antimicrobianos incluindo penicilinas, cefalosporinas, aminoglicosídeos e tetraciclina. Esta barreira é geralmente considerada menos problemática em caso de prostatite aguda (Weese, *et al.*, 2019) por ser alterada pela inflamação, permitindo a penetração da maioria dos antimicrobianos. Já na prostatite crônica, a ação da barreira apenas permite a penetração de fármacos altamente lipofílicos (Davidson, 2017) como fluoroquinolonas, trimetoprim e cloranfenicol. O uso de fluoroquinolonas é recomendado como primeira escolha em prostatite bacteriana causada por bactérias Gram-negativas e a clindamicina é uma opção quando a prostatite é provocada por bactérias Gram-positivas (Westropp & Sykes, 2023).

A duração do tratamento ainda não foi adequadamente estudada no cão, contudo, tem sido recomendada uma duração de quatro a seis semanas (Foster, 2020) ou de quatro a doze semanas. A orquiectomia é recomendada como tratamento adjuvante em cães não destinados à reprodução (Weese, *et al.*, 2019).

1.7.5. Bacteriúria assintomática

O tratamento de bacteriúria subclínica com antimicrobianos não é recomendado. Em raras circunstâncias, o tratamento de bacteriúria subclínica pode ser considerado se houver um risco elevado de infecção ascendente ou sistêmica (Bartges & Olin, 2017; Weese, *et al.*, 2019; Allerton, *et al.*, 2021) ou se a bexiga for o foco de uma infecção extra-urinária. Em pacientes incapacitados de manifestar sinais clínicos de cistite (por exemplo animais com lesão da medula espinal), deve ser feita uma avaliação clínica tendo em conta a necessidade e

potenciais impactos adversos (como efeitos adversos dos fármacos e resistência antimicrobiana) (Weese, *et al.*, 2019).

1.8. Mecanismos de ação dos antimicrobianos

Os agentes antimicrobianos têm como alvo as funções vitais dos microrganismos e cada classe de antimicrobianos exerce a sua ação bactericida ou bacteriostática de forma diferente (Abushaheen, *et al.*, 2020). Os mecanismos de ação dos antimicrobianos incluem: inibição da síntese da parede celular, inibição da síntese proteica, inibição da síntese de ácidos nucleicos, inibição das vias metabólicas e inibição da função da membrana celular bacteriana (Uddin, *et al.*, 2021).

1.8.1. Inibição da síntese da parede celular

A parede celular bacteriana é uma macromolécula elástica fundamental na manutenção da forma da célula bacteriana que protege a célula da lise celular. O peptidoglicano é o principal constituinte da parede celular bacteriana e a sua estrutura consiste em longas cadeias de polissacarídeos unidos por ligações peptídicas com o auxílio da transpeptidase e carboxipeptidase, também conhecidas como proteínas de ligação à penicilina (PBPs) (Abushaheen, *et al.*, 2020). Os antimicrobianos beta-lactâmicos (penicilinas e os seus derivados, cefalosporinas e carbapenemos) e os glicopeptídeos (vancomicina) inibem a síntese da parede celular ao inibir a síntese do peptidoglicano, tornando a célula vulnerável à pressão osmótica (Uddin, *et al.*, 2021).

As PBPs são o alvo dos beta-lactâmicos. Por serem estruturalmente semelhantes ao dipéptido D-alanil-D-alanina do peptidoglicano em desenvolvimento, estes antimicrobianos ligam-se covalentemente às PBPs, impedindo a ligação peptídica do peptidoglicano na síntese da parede celular bacteriana (Abushaheen, *et al.*, 2020). Consequentemente, ocorre a perda de viabilidade dos microrganismos e lise celular (Uddin, *et al.*, 2021).

1.8.2. Inibição da síntese proteica

A síntese proteica consiste num processo biológico vital e complexo através do qual as células sintetizam proteínas específicas. Esta síntese engloba os processos de transcrição e tradução que são executados em quatro etapas: iniciação, alongamento, terminação e

reciclagem. Alguns antimicrobianos possuem a capacidade de inibir seletivamente o crescimento bacteriano devido à diferença estrutural entre os ribossomas das bactérias e os ribossomas das células eucarióticas (Abushaheen, *et al.*, 2020). Os ribossomas bacterianos 70S são constituídos pelas subunidades 30S e 50S e os antimicrobianos podem ter como alvo a subunidade 30S (aminoglicosídeos e tetraciclinas) ou a subunidade 50S (cloranfenicol e macrólidos) (Uddin, *et al.*, 2021).

Os macrólidos, os aminoglicosídeos e a tetraciclina possuem grupos de carboidratos com carga positiva que se ligam à membrana plasmática cuja carga é negativa, permitindo a sua entrada na célula por difusão. Uma vez no interior da célula, o antimicrobiano anexa-se à subunidade 30S do ribossoma e altera o processo de tradução que resulta na formação de um emparelhamento incorreto entre o ácido ribonucleico (RNA, *ribonucleic acid*) mensageiro e o RNA transportador e que, por consequência, leva a uma tradução errada durante a síntese proteica (Abushaheen, *et al.*, 2020).

1.8.3. Inibição da síntese dos ácidos nucleicos

Alguns fármacos antimicrobianos como a rifampicina e as fluoroquinolonas exercem a sua função por inibição do RNA e do DNA, respetivamente (Uddin, *et al.*, 2021). A síntese do DNA bacteriano requer um grupo de enzimas-chave denominadas de topoisomerasas (Abushaheen, *et al.*, 2020).

As fluoroquinolonas são antimicrobianos de largo espectro com ação em bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e anaeróbias (Abushaheen, *et al.*, 2020). Esta classe de antimicrobianos inibe a enzima DNA girase em bactérias Gram-negativas, fundamental para a iniciação da replicação do DNA e a enzima topoisomerase IV em bactérias Gram-positivas, crucial na segregação cromossômica após a replicação do DNA (Abushaheen, *et al.*, 2020; Uddin, *et al.*, 2021). Através da sua ligação a estas enzimas, as fluoroquinolonas provocam uma alteração no superenrolamento do DNA que resulta na quebra da dupla hélice do DNA e causa a morte celular (Abushaheen, *et al.*, 2020).

1.8.4. Inibição das vias metabólicas

Alguns antimicrobianos sintéticos funcionam como antimetabolitos ou inibidores competitivos das enzimas metabólicas bacterianas. As sulfonamidas e o trimetoprim inibem diferentes etapas da via metabólica do ácido fólico (Uddin, *et al.*, 2021). O ácido paraminobenzóico (PABA) é um componente importante na via metabólica de síntese do folato. As sulfonamidas são estruturalmente semelhantes ao PABA e funcionam como inibidores

competitivos como um substrato alternativo na síntese bacteriana de folato, inibindo o crescimento bacteriano. O trimetoprim é um inibidor da dihidrofolato redutase (DHFR) (Abushaheen, *et al.*, 2020), uma das principais enzimas envolvidas na conversão de dihidrofolato (DHF) em tetrahidrofolato (THF). O THF é necessário para a síntese de proteínas e ácidos nucleicos nas bactérias e é da inibição desta síntese que resulta a ação bactericida do trimetoprim (Uddin, *et al.*, 2021). As sulfonamidas e o trimetoprim possuem um largo espectro de ação que inclui bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (Abushaheen, *et al.*, 2020).

1.8.5. Inibição da função da membrana celular bacteriana

Uma pequena classe de antimicrobianos, como as polimixinas, provocam a lise da membrana celular bacteriana ao interferirem com a porção LPS das bactérias Gram-negativas (Uddin, *et al.*, 2021). As moléculas do antimicrobiano possuem carga positiva e atraem as bactérias negativamente carregadas devido à presença do peptidoglicano e da camada LPS. As polimixinas ligam-se à membrana celular bacteriana e alteram a sua estrutura, resultando num aumento da sua permeabilidade. Esta alteração leva a um desequilíbrio osmótico que, por sua vez, leva a uma saída de moléculas celulares, ao impedimento da respiração celular e à entrada de água na célula, causando a morte celular (Abushaheen, *et al.*, 2020).

1.9. Mecanismos de resistência antimicrobiana

A resistência antimicrobiana é um tema de preocupação global pelo uso excessivo ou inadequado dos antimicrobianos (Bloch, *et al.*, 2022), sendo a ITU uma das principais causas do uso significativo dos mesmos (Weese, *et al.*, 2019). Na ausência de cultura e TSA, o tratamento de ITUs recorrentes pode levar a escolhas inapropriadas de antimicrobianos e ao desenvolvimento de bactérias multirresistentes (Yudhanto, *et al.*, 2022). Os níveis aumentados de resistência antimicrobiana podem advir da utilização de antimicrobianos de largo espectro no tratamento da ITU (que pode aumentar a seleção de bactérias resistentes) (Yudhanto, *et al.*, 2022) e da pressão de seleção do fármaco, especialmente quando este é desadequado ou administrado em doses demasiado baixas, que leva à sobrevivência de uma população bacteriana resistente ou induz mecanismos de resistência antimicrobiana (Kowalska-Krochmal & Dudek-Wicher, 2021).

A ISCAID publicou, em 2019, linhas orientadoras para a utilização adequada dos antimicrobianos no tratamento da ITU. Foi conduzido um estudo com o intuito de descrever os padrões de prescrição de antimicrobianos em caso de infeção esporádica do trato urinário inferior em cães, nos Estados Unidos, no período compreendido entre 2010 e 2019. Os

resultados do estudo demonstram que, em cães com suspeita de ITU esporádica, a proporção de visitas que resultaram em prescrição de antimicrobiano diminuiu, o que indica que as linhas orientadoras da ISCAID tiveram um efeito positivo (Bloch, *et al.*, 2022).

A resistência antimicrobiana é definida como a capacidade de um microrganismo resistir à ação de um agente antimicrobiano que resulta na ineficiência deste em inibir o crescimento bacteriano (Pulingam, *et al.*, 2021). Esta resistência pode ser inata aos microrganismos (Uddin, *et al.*, 2021) devido às suas características estruturais ou funcionais (resistência intrínseca) ou adquirida (Reygaert, 2018; Abushaheen, *et al.*, 2020).

A resistência adquirida pode resultar de mutações no ADN da própria bactéria (especialmente por interferência na replicação do ADN) ou de aquisição de genes resistentes através dos processos de transformação, conjugação ou transdução (Pulingam, *et al.*, 2021; Uddin, *et al.*, 2021). As mutações podem ter origem em alterações simples ou múltiplas de nucleótidos que incluem inserções e deleções (Pulingam, *et al.*, 2021). O mecanismo de transformação envolve a captação de DNA livre no ambiente: a bactéria adquire o material genético da superfície para o citoplasma através da membrana citoplasmática (Abushaheen, *et al.*, 2020). A conjugação consiste numa fusão transiente entre duas bactérias, durante a qual os genes que codificam a resistência são transferidos de uma célula para a outra através de uma ponte de conjugação. A transdução é um processo de transferência de material genético entre bactérias através de transposões ou plasmídeos, mediada por bacteriófagos e integrões (Pulingam, *et al.*, 2021).

Os mecanismos de resistência antimicrobiana podem ser classificados em quatro categorias principais: limitação da captação do fármaco, efluxo ativo do fármaco, inativação do fármaco e modificação do alvo do fármaco (Reygaert, 2018; Uddin, *et al.*, 2021).

1.9.1. Limitação da captação do fármaco

As bactérias Gram-negativas são intrinsecamente menos permeáveis a certos agentes antimicrobianos devido à presença da camada LPS, que atua como um escudo (Uddin, *et al.*, 2021).

A redução da permeabilidade da membrana externa é um mecanismo que limita a entrada e acumulação do fármaco dentro da célula através da desregulação ou modificação estrutural dos genes que codificam as porinas (proteínas presentes na membrana externa que permitem a entrada dos antimicrobianos na célula bacteriana) (Abushaheen, *et al.*, 2020). Os fármacos hidrofílicos como os beta-lactâmicos, as tetraciclina e algumas fluoroquinolonas são os mais afetados pela alteração da permeabilidade da membrana externa (Uddin, *et al.*, 2021).

A formação de biofilme é outro mecanismo que limita a captação do fármaco (Uddin, *et al.*, 2021). Os biofilmes são comunidades complexas de bactérias, encapsuladas numa matriz

protetora (de Sousa, *et al.*, 2023), caracterizadas por interações altamente especializadas entre organismos, que aderem a superfícies bióticas e abióticas (Sora, *et al.*, 2021). De um modo genérico, a formação do biofilme inicia-se com a agregação bacteriana, seguida da formação de microcolônias e, por fim, a maturação do biofilme (Ballash, *et al.*, 2022). As bactérias ficam envolvidas numa matriz de substâncias poliméricas extracelulares autoproduzidas que lhes permite alterar fenótipos como taxa de crescimento, transcrição de genes e resistência antimicrobiana (Sora, *et al.*, 2021). As propriedades físicas do biofilme criam um ambiente que inibe o acesso dos antimicrobianos às bactérias envolvidas pela matriz (Ballash, *et al.*, 2022). Adicionalmente, a matriz é responsável por gerar um gradiente de nutrientes que pode resultar numa diminuição da taxa de crescimento e redução da atividade metabólica (Azam & Khan, 2019), aumentando a resistência aos antimicrobianos com ação nas vias de crescimento, reprodução ou nutrição bacteriana (Ballash, *et al.*, 2022). Os biofilmes podem ainda ser compostos por subpopulações heterogêneas de estirpes resistentes que podem servir como fonte de transferência horizontal de genes de resistência (Ballash, *et al.*, 2022).

Os biofilmes das bactérias Gram-negativas apresentam mais células persistentes comparativamente a outros biofilmes devido à camada de LPS presente na parede celular, o que diminui ainda mais a penetração dos antimicrobianos (Azam & Khan, 2019).

1.9.2. Efluxo ativo do fármaco

As bombas de efluxo são proteínas de transporte presentes na parede celular bacteriana responsáveis pelo transporte de nutrientes e expulsão de compostos tóxicos do ambiente celular (Pulingam, *et al.*, 2021), possuindo a capacidade de excretar o antimicrobiano da célula bacteriana (Abushaheen, *et al.*, 2020). As bombas de efluxo podem ser específicas para um determinado agente antimicrobiano ou expulsar uma variedade de antimicrobianos estruturalmente e funcionalmente diferentes (Pulingam, *et al.*, 2021) como os beta-lactâmicos, os macrólidos e as fluoroquinolonas (Uddin, *et al.*, 2021).

1.9.3. Inativação do fármaco

A inativação do fármaco é um processo baseado em enzimas no qual a molécula ativa do antimicrobiano é inativada por enzimas produzidas pelas células bacterianas resistentes (Pulingam, *et al.*, 2021). As estratégias utilizadas para inativar o fármaco incluem a destruição do fármaco e a alteração química do fármaco (Uddin, *et al.*, 2021).

Um dos exemplos mais estudados de destruição do fármaco é a hidrólise do anel beta-lactâmico dos antimicrobianos como as penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos por

bactérias produtoras das enzimas beta-lactamases (Pulingam, *et al.*, 2021). Estas enzimas hidrolisam a ligação amida do anel beta-lactâmico, resultando na inativação do antimicrobiano (Abushaheen, *et al.*, 2020).

Algumas bactérias produzem enzimas que têm a capacidade de anexar vários grupos químicos aos antimicrobianos. A adição dos grupos acetil, adenil ou fosfato ao antimicrobiano resulta na sua alteração química e inativação, conseqüentemente impedindo a sua ligação ao alvo (Uddin, *et al.*, 2021). Por exemplo, a fosforilação pode ocorrer nos macrólidos e a acetilação, adenilação e fosforilação ocorrem nos aminoglicosídeos (Abushaheen, *et al.*, 2020).

As enzimas modificadoras de aminoglicosídeos alteram covalentemente os grupos hidroxilo e amina da molécula do aminoglicosídeo, inativando o antimicrobiano (Uddin, *et al.*, 2021).

1.9.4. Modificação do alvo do fármaco

Algumas espécies bacterianas têm a capacidade de produzir proteínas alternativas que substituem as proteínas originais (alvo do fármaco), permitindo a sua resistência aos antimicrobianos (Pulingam, *et al.*, 2021). Um dos mecanismos de resistência bacteriana a beta-lactâmicos consiste na alteração da estrutura das proteínas de ligação à penicilina de forma a reduzir a sua afinidade com o antimicrobiano. Os genes *mecA* e *mecC*, encontrados no *Staphylococcus* spp., são genes que codificam uma PBP alternativa, a PBP2a, que apresenta uma afinidade reduzida com todos os antimicrobianos beta-lactâmicos (Abushaheen, *et al.*, 2020).

A resistência a fármacos que inibem a síntese dos ácidos nucleares, como as fluoroquinolonas é mediada por mutações da região determinante de resistência às fluoroquinolonas na DNA girase e topoisomerase IV. Estas mutações alteram a composição destas enzimas, reduzindo ou suprimindo a ligação do antimicrobiano às mesmas (Uddin, *et al.*, 2021).

A substituição de um alvo original sensível a certos agentes antimicrobianos por um alvo resistente é um mecanismo frequente na resistência a sulfonamidas e trimetoprim (Abushaheen, *et al.*, 2020).

1.10. Características e mecanismos de resistência dos principais agentes bacterianos presentes em ITU

Como referido anteriormente, as bactérias Gram-negativas mais comumente presentes em amostras de urina de cães com ITU são *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella*

pneumoniae e *Pseudomonas aeruginosa* (DiBartola & Westropp, 2020; Aurich, *et al.*, 2022; Westropp & Sykes, 2023). As bactérias Gram-positivas mais frequentemente envolvidas em infecções do trato urinário são *Staphylococcus* sp., *Enterococcus* sp. e *Streptococcus* sp. (Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

1.10.1. *Escherichia coli*

A *Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa e anaeróbia facultativa pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Tem a forma de bacilo, pode possuir ou não cápsula e é geralmente móvel devido à presença de flagelos. A *E. coli* é uma bactéria integrante da flora intestinal de animais de sangue quente, sendo geralmente não patogénica (Sora, *et al.*, 2021). Não obstante, algumas estirpes adquirem fatores de virulência específicos (através da transferência horizontal de genes, de plasmídeos, de bacteriófagos e de ilhas de patogenicidade) que lhes permitem sobreviver em diferentes ambientes (Etefia & Ben, 2020) e desenvolvem mecanismos patogénicos capazes de causar várias afeções em humanos e animais (Sora, *et al.*, 2021). A *E. coli* uropatogénica (UPEC, *uropathogenic Escherichia coli*), responsável pelo desenvolvimento da ITU (Babacan & İzgür, 2021), é uma variante da *E. coli* patogénica extraintestinal (ExPEC, *extraintestinal pathogenic Escherichia coli*) (Sora, *et al.*, 2021). Apesar de existirem no trato gastrointestinal, as variantes do grupo ExPEC são capazes de se propagar e causar doenças extraintestinais, como a ITU (Etefia & Ben, 2020).

A patogenicidade da UPEC está relacionada com os fatores de virulência que lhe permitem causar infecções no trato urinário nomeadamente adesinas, sistemas de captação de ferro, cápsula, flagelos e toxinas (Firoozeh, *et al.*, 2022).

As adesinas promovem o contacto próximo entre a bactéria e a célula (Sora, *et al.*, 2021), facilitando a adesão dos microrganismos às células do trato urinário do hospedeiro e consequente colonização bacteriana (Etefia & Ben, 2020; Babacan & İzgür, 2021). Os principais tipos de adesinas da *E. coli* incluem as fímbrias e as proteínas da membrana externa. As fímbrias facilitam a adesão e penetração dos microrganismos nos tecidos do hospedeiro (Sora, *et al.*, 2021), promovem a inflamação da mucosa (Etefia & Ben, 2020) e são importantes na formação de biofilmes (Babacan & İzgür, 2021), cuja matriz extracelular dificulta a entrada do antimicrobiano no agregado bacteriano (Uddin, *et al.*, 2021). As proteínas da membrana externa, além de também estarem envolvidas na adesão das bactérias às células epiteliais da mucosa, medeiam a adesão das bactérias a leucócitos e macrófagos, conferindo a várias bactérias patogénicas a capacidade de escapar ao sistema imune do hospedeiro (Sora, *et al.*, 2021).

De forma a sobreviver no trato urinário, onde existe uma quantidade limitada de ferro (Babacan & İzgür, 2021), a UPEC desenvolveu várias estratégias para a sua obtenção pois a

deficiência em ferro provoca alterações na estrutura e síntese da cápsula celular bacteriana que enfraquecem a capacidade adaptativa das bactérias. Os sideróforos (enterobactina, salmochelina, aerobactina e yersiniabactina) são metabolitos secundários que atuam na captação de ferro (Sora, *et al.*, 2021), favorecendo o crescimento e desenvolvimento bacteriano (Sarowska, *et al.*, 2019). Estes metabolitos fornecem à bactéria a capacidade de escapar às defesas do sistema imune, obter ferro a partir da transferrina e permitir a utilização de ferro presente na hemoglobina do hospedeiro (Sora, *et al.*, 2021).

A cápsula é uma camada polissacarídea que reveste a superfície externa celular, auxilia a adesão bacteriana a várias superfícies e protege a bactéria do sistema imune do hospedeiro, das células fagocitárias e da ação bactericida do complemento. Os flagelos são responsáveis pelo movimento bacteriano (Firoozeh, *et al.*, 2022) e podem facilitar a ascensão das bactérias desde o trato urinário inferior até ao trato urinário superior (Etefia & Ben, 2020).

A principal toxina da UPEC é a alfa-hemolisina (HlyA, *hemolysin A*) (Firoozeh, *et al.*, 2022). O mecanismo para a citotoxicidade da alfa-hemolisina envolve a formação de poros na membrana celular por onde se dá a perda de iões intracelulares e subsequente afluxo de cátions e água que levam à lise osmótica, resultando na lise dos eritrócitos (Sora, *et al.*, 2021). Os efeitos desta toxina na ITU dependem da concentração secretada pela UPEC. A uma alta concentração, a HlyA tem um efeito citotóxico nos eritrócitos e em células nucleadas do hospedeiro, permitindo a invasão das bactérias na mucosa epitelial (Etefia & Ben, 2020). Em baixas concentrações, a toxina causa apoptose em várias células do hospedeiro particularmente em linfócitos, neutrófilos e células renais (Firoozeh, *et al.*, 2022). Várias estirpes de UPEC secretam o fator citotóxico necrotizante tipo 1 (CNF1, *cytotoxic necrotizing factor 1*) que possibilita a invasão bacteriana no rim (Etefia & Ben, 2020). A produção desta toxina diminui a fagocitose pelas células polimorfonucleares, resultando na sobrevivência das bactérias (Firoozeh, *et al.*, 2022) e conseqüente aumento da invasão bacteriana nas células epiteliais (Sora, *et al.*, 2021).

A resistência antimicrobiana da *E. coli* é um problema em rápida expansão devido à sua habilidade para realizar mutações e para adquirir e transmitir plasmídeos (e outros elementos genéticos) que codificam genes de resistência (Sarowska, *et al.*, 2019).

As beta-lactamases de espectro alargado (ESBLs, *extended spectrum beta-lactamases*) produzidas pela *E. coli* são enzimas que inativam antimicrobianos beta-lactâmicos como penicilinas, cefalosporinas e monobactams (Firoozeh, *et al.*, 2022) por hidrólise do anel beta-lactâmico (El-Tarabili, *et al.*, 2022), levando à ineficácia dos mesmos. Os plasmídeos que codificam os genes das ESBLs transferem frequentemente genes de resistência a outros antimicrobianos como aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e sulfonamidas (Firoozeh, *et al.*, 2022).

A *E. coli* produz ainda outras enzimas nomeadamente as carbapenemases (resistência contra carbapenemos), enzimas modificadoras de aminoglicosídeos, da fosfomicina e da camada LPS (resistência contra aminoglicosídeos, fosfomicina e polimixinas, respetivamente) e

enzimas que realizam a degradação enzimática do antimicrobiano (resistência contra a tetraciclina) (Firoozeh, *et al.*, 2022).

O mecanismo de resistência a fluoroquinolonas mais frequentemente demonstrado pela *E. coli* tem origem nas múltiplas mutações na região determinante de resistência às fluoroquinolonas (QRDR, *quinolone resistance-determining regions*). Outros mecanismos associados a uma baixa sensibilidade às fluoroquinolonas incluem bombas de efluxo, alterações das proteínas da membrana externa e genes de resistência mediada por plasmídeos (Firoozeh, *et al.*, 2022) que codificam uma família de proteínas que protege a DNA girase e a topoisomerase IV (que são os alvos das fluoroquinolonas) (Li, *et al.*, 2023).

O aumento da atividade das bombas de efluxo (que pode resultar no efluxo ativo de antimicrobianos), a alteração da permeabilidade da membrana celular bacteriana provocada por mutações nas porinas (poros na membrana externa de bactérias Gram-negativas que controlam a entrada de antimicrobianos na bactéria), a modificação do alvo do antimicrobiano e a mutação de genes relacionados com proteínas envolvidas na captação do antimicrobiano são também mecanismos que conferem resistência antimicrobiana à *E. coli* (Firoozeh, *et al.*, 2022).

1.10.2. *Proteus mirabilis*

O *Proteus mirabilis* é uma bactéria oportunista Gram-negativa, móvel e em forma de bacilo pertencente à família *Enterobacteriaceae*, que pode ser encontrada no meio ambiente (na água e no solo) e no trato gastrointestinal de animais (Yuan, *et al.*, 2021; Liu, *et al.*, 2023).

Os fatores de virulência do *P. mirabilis* que auxiliam a bactéria a colonizar, destruir tecidos e escapar ao sistema imune incluem a urease, fímbrias, flagelos, toxinas e sideróforos (Liu, *et al.*, 2023).

O *P. mirabilis* é um dos principais microrganismos responsáveis pelo desenvolvimento de ITUs associadas a cateteres urinários (Mancuso, *et al.*, 2023) e é conhecido pela sua capacidade de produzir a enzima urease, cuja síntese é induzida pela presença de ureia (Yuan, *et al.*, 2021). Através da ação da urease, esta espécie bacteriana possui a capacidade de hidrolisar ureia para formar amónia e dióxido de carbono (Weese, *et al.*, 2019; Mancuso, *et al.*, 2023) e a produção de amónia provoca um aumento do pH da urina que resulta na precipitação de cálcio e magnésio em cristais de fosfato de amónia e magnésio (cálculos de estruvite) (Hussein, *et al.*, 2020; Liu, *et al.*, 2023). A urease produzida pelo *P. mirabilis* está associada à formação de cálculos urinários (urolitíase) secundários a infeção (Yuan, *et al.*, 2021). A urolitíase confere proteção aos microrganismos ao impedir os antimicrobianos e as imunoglobulinas de alcançar as bactérias ocultas nos cálculos (Yuan, *et al.*, 2021). Adicionalmente, a sua presença no trato urinário pode bloquear o fluxo urinário normal, causando refluxo e promovendo a progressão ascendente da infeção (Mancuso, *et al.*, 2023).

O aumento do pH da urina e a formação de cristais possibilitam a formação de biofilmes cristalinos nas superfícies externa e interna do cateter urinário (Yuan, *et al.*, 2021; Mancuso, *et al.*, 2023) e a presença do biofilme no cateter leva a incrustação e bloqueio do mesmo que pode ser acompanhado de retenção urinária e ITU ascendente, podendo causar cistite e pielonefrite (Yuan, *et al.*, 2021). Adicionalmente, o biofilme cristalino protege as bactérias do sistema imune e dos antimicrobianos (Liu, *et al.*, 2023; Mancuso, *et al.*, 2023).

Uma vez na bexiga, o *P. mirabilis* tem o potencial de produzir várias fímbrias e adesinas que aderem ao epitélio do trato urinário (Yuan, *et al.*, 2021). As fímbrias manose-resistentes (MR) estão associadas à adesão do *P. mirabilis* à superfície do cateter urinário e participam no início da formação do biofilme (Yuan, *et al.*, 2021; Mancuso, *et al.*, 2023). As fímbrias MR e as fímbrias *Proteus mirabilis* (PM) desempenham um papel importante na adesão seletiva das bactérias ao epitélio vesical (Yuan, *et al.*, 2021).

O *P. mirabilis* é um microrganismo móvel que possui flagelos periféricos e tem a capacidade de se diferenciar de bacilos pequenos e unicelulares em colônias de células multicelulares de forma alongada que se conseguem movimentar rapidamente através de superfícies sólidas e de forma coordenada (mobilidade *swarming*) (Yuan, *et al.*, 2021; Liu, *et al.*, 2023).

São produzidas duas toxinas pelo *P. mirabilis*, nomeadamente a hemolisina HpmA e a aglutinina tóxica do *Proteus* (Pta), que estão associadas a dano tissular e transmissão renal, resultando em pielonefrite aguda (Yuan, *et al.*, 2021; Mancuso, *et al.*, 2023). A HpmA é uma toxina formadora de poros que destabiliza as células do hospedeiro ao inserir-se na membrana celular das mesmas. A Pta perfura a membrana da célula do hospedeiro, provocando a saída de citoplasma, destruição da pressão osmótica e despolimerização dos filamentos de actina e ajuda na colonização da bexiga e dos rins (Yuan, *et al.*, 2021). Estas toxinas desempenham também um papel importante na infeção relacionado com a libertação de nutrientes após a lise das células do hospedeiro (Mancuso, *et al.*, 2023).

O *P. mirabilis* é responsável pela produção de vários tipos de beta-lactamases incluindo beta-lactamases de espectro estreito, beta-lactamases de espectro alargado, beta-lactamases AmpC, carbapenemases e cefalosporinases. As beta-lactamases de espectro estreito hidrolisam penicilinas de espectro estreito e cefalosporinas de primeira geração e podem ser sensíveis ou resistentes ao ácido clavulânico. De uma forma geral, as beta-lactamases de espectro alargado conferem um nível elevado de resistência ao *P. mirabilis* (Girlich, *et al.*, 2020), causando lise em vários antimicrobianos beta-lactâmicos como penicilinas, cefalosporinas e carbapenemos (El-Tarabili, *et al.*, 2022). As beta-lactamases AmpC são enzimas com atividade hidrolítica direcionada a cefalosporinas de espectro alargado como a cefotaxima e a ceftazidima. As cefalosporinases adquiridas pelo *P. mirabilis* conferem resistência à amoxicilina, cefoxitina, cefotaxima e ceftazidima. As carbapenemases identificadas no *P. mirabilis* incluem as metalo-beta-lactamases (que hidrolisam todos os

antimicrobianos beta-lactâmicos expeto o aztreonam) e as beta-lactamases que hidrolisam os carbapenemos (Girlich, *et al.*, 2020).

Os genes de resistência à tetraciclina encontram-se frequentemente em plasmídeos conjugativos e transposões. As bombas de efluxo, a proteção ribossomal e a desativação enzimática integram também os mecanismos de resistência do *P. mirabilis* à tetraciclina (El-Tarabili, *et al.*, 2022).

A resistência às fluoroquinolonas tem origem em três mecanismos de resistência mediada por plasmídeos: proteção do alvo das fluoroquinolonas (DNA girase e topoisomerase IV), acetilação enzimática da ciprofloxacina e norfloxacina e bombas de efluxo específicas ou inespecíficas (Girlich, *et al.*, 2020).

1.10.3. *Klebsiella pneumoniae*

A *Klebsiella pneumoniae* é uma bactéria Gram-negativa, em forma de bacilo, imóvel, fermentadora de lactose e anaeróbia facultativa pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Esta bactéria pode ser encontrada no meio ambiente (solo, água e plantas), na flora da pele e do trato gastrointestinal de animais (Ribeiro, *et al.*, 2022) e em dispositivos médicos (Paczosa & Mecsas, 2016). Atualmente, existem quatro fatores de virulência identificados na *K. pneumoniae*: cápsula, LPS, sideróforos e fímbrias (Piperaki, *et al.*, 2017; Wang, *et al.*, 2020).

Durante a infecção, a cápsula da *K. pneumoniae* tem uma ação protetora contra o sistema imune através de múltiplos mecanismos como inibição da fagocitose pelas células de defesa do hospedeiro, impedimento da ativação precoce da resposta imune e bloqueio da lise celular pelo sistema complemento e peptídeos antibacterianos (Paczosa & Mecsas, 2016). Algumas estirpes têm a capacidade de modificar a camada LPS, impedindo o reconhecimento da *K. pneumoniae* pelas células do hospedeiro e inibindo, dessa forma, a resposta inflamatória (Piperaki, *et al.*, 2017; Wang, *et al.*, 2020).

O principal método de captação de ferro, utilizado pela *K. pneumoniae*, é a secreção de sideróforos (enterobactina, aerobactina, yersiniabactina e salmochelina) (Paczosa & Mecsas, 2016; Piperaki, *et al.*, 2017; Wang, *et al.*, 2020), sendo a obtenção de ferro fundamental para o crescimento e multiplicação bacteriana (Wang, *et al.*, 2020).

A *K. pneumoniae* possui adesinas como as fímbrias do tipo 1 e do tipo 3, que promovem a adesão bacteriana ao epitélio, células do sistema imune e superfícies abióticas (Piperaki, *et al.*, 2017; Wang, *et al.*, 2020). As fímbrias do tipo 1 contribuem para a invasão bacteriana das células vesicais e para a formação de biofilme na bexiga (Paczosa & Mecsas, 2016; Piperaki, *et al.*, 2017). Um dos papéis mais relevantes e clinicamente importantes, desempenhado pelas fímbrias desta bactéria é a formação de biofilmes em superfícies abióticas como cateteres urinários e outros dispositivos médicos (Paczosa & Mecsas, 2016; Wang, *et al.*, 2020). A

formação de biofilme pela *K. pneumoniae* é uma das condições cruciais para a manutenção da sua atividade (Wang, *et al.*, 2020). A matriz extracelular impede o acesso dos anticorpos e peptídeos antibacterianos às bactérias e reduz a eficiência do sistema complemento e da fagocitose (Piperaki, *et al.*, 2017).

Os mecanismos de resistência antimicrobiana observados na *K. pneumoniae* têm maioritariamente origem em cinco processos: inativação e modificação enzimática do antimicrobiano, alteração do alvo do antimicrobiano, perda e mutação de porinas, aumento da expressão das bombas de efluxo e formação de biofilme. O sistema de efluxo ativo possui a capacidade de expulsar diversos antimicrobianos da célula bacteriana incluindo fluoroquinolonas, beta-lactâmicos, macrólidos e tetraciclina. A formação de biofilme reduz a sensibilidade à gentamicina, ampicilina e ciprofloxacina (Li, *et al.*, 2023).

A *K. pneumoniae* adquiriu mecanismos de resistência antimicrobiana a aminoglicosídeos através da modificação da permeabilidade celular e de genes de enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (Wang, *et al.*, 2020), que impedem a ligação do agente antimicrobiano ao seu alvo (Li, *et al.*, 2023).

Os mecanismos de resistência a fluoroquinolonas incluem mutações nos genes do alvo do antimicrobiano, aumento da atividade das bombas de efluxo e modificação de enzimas e proteínas (Wang, *et al.*, 2020; Li, *et al.*, 2023).

A *K. pneumoniae* produz enzimas que inibem a ação de diversos antimicrobianos como beta-lactamases de espectro alargado (resistência a cefalosporinas) (Paczosa & Mecsas, 2016; Li, *et al.*, 2023) e carbapenemases (resistência a quase todos os beta-lactâmicos incluindo os carbapenemos) (Paczosa & Mecsas, 2016).

O principal mecanismo de resistência às polimixinas consiste na modificação da estrutura da camada LPS, que tem como consequência a diminuição da interação da polimixina com o seu alvo (Li, *et al.*, 2023). A resistência às polimixinas está também relacionada com uma elevada expressão de bombas de efluxo (Wang, *et al.*, 2020).

1.10.4. *Pseudomonas aeruginosa*

A *Pseudomonas aeruginosa* é uma bactéria patogénica oportunista, Gram-negativa, móvel (com um único flagelo polar), em forma de bacilo e aeróbia (Azam & Khan, 2019) (embora possa crescer em condições anaeróbias (Morita, *et al.*, 2014)) pertencente à família *Pseudomonadaceae*. Este agente patogénico desenvolve-se em ambientes bióticos e abióticos incluindo solos, ambientes aquáticos, plantas, tecidos animais e dispositivos médicos (Azam & Khan, 2019; de Sousa, *et al.*, 2023). A *P. aeruginosa* possui uma ampla quantidade de fatores de virulência que facilitam a infeção e colonização bacteriana em variados ambientes (Newman, *et al.*, 2017).

A mobilidade é uma característica muito importante nesta bactéria e deve-se à presença de um flagelo polar único (responsável pelo movimento bacteriano) e das fímbrias que desenrolam um papel fundamental na adesão e colonização inicial das células superficiais da mucosa (Newman, *et al.*, 2017).

A pioverdina e a piochelina são sideróforos produzidos pela *P. aeruginosa*. A pioverdina representa o sistema primário de captação de ferro, permitindo a sobrevivência e crescimento das bactérias na bexiga, onde o ambiente é pobre em ferro (Newman, *et al.*, 2017).

A *P. aeruginosa* possui toxinas como a ExoS, a ExoT e a exotoxina A que promovem a persistência bacteriana, a evasão ao sistema imune e a estimulação da inflamação renal. Possui também a piocianina que é uma toxina que tem a capacidade de impedir a reparação das células uroteliais, induzir inflamação e provocar dor e urgência urinária (Newman, *et al.*, 2017).

Das enzimas secretadas pela *P. aeruginosa* destacam-se a elastase LasA e a fosfolipase C. A LasA participa na degradação dos tecidos do hospedeiro e interfere com a resposta imune, facilitando a invasão (Newman, *et al.*, 2017; de Sousa, *et al.*, 2023). A fosfolipase C possui uma atividade hemolítica que aumenta a disponibilidade de ferro no trato urinário (Newman, *et al.*, 2017).

Um dos fatores de virulência mais relevantes desta bactéria é a sua capacidade para formar biofilmes (de Sousa, *et al.*, 2023). A formação de biofilmes pela *P. aeruginosa* aumenta a sua resistência a condições ambientais severas (Newman, *et al.*, 2017) e dificulta a eliminação da infecção pelo sistema imune do hospedeiro ou pelos antimicrobianos (de Sousa, *et al.*, 2023).

A membrana externa da *P. aeruginosa* serve de barreira à penetração dos antimicrobianos na célula bacteriana (Newman, *et al.*, 2017; Azam & Khan, 2019). A redução da permeabilidade da membrana externa diminui a taxa a que os antimicrobianos entram na célula (Langendonk, *et al.*, 2021) e ocorre principalmente devido a alterações nas porinas da membrana (Azam & Khan, 2019). Este mecanismo fornece resistência a várias classes de antimicrobianos incluindo aminoglicosídeos, beta-lactâmicos e fluoroquinolonas (Bassetti, *et al.*, 2018).

As bombas de efluxo são o principal mecanismo de resistência da *P. aeruginosa* (Langendonk, *et al.*, 2021) e estão envolvidas na resistência a penicilinas, carbapenemos, tetraciclina, eritromicina, gentamicina, cloranfenicol, macrólidos, trimetoprim, imipenem, fluoroquinolonas e aminoglicosídeos (Azam & Khan, 2019; Langendonk, *et al.*, 2021). A elevada expressão das bombas de efluxo resultante de mutações nos sistemas regulatórios (que podem ser induzidas por pressão antimicrobiana), podem conferir resistência a todas as classes de antimicrobianos excetuando as polimixinas (Bassetti, *et al.*, 2018).

As estirpes de *P. aeruginosa*, tal como as *Enterobacteriaceae*, produzem beta-lactamases (Langendonk, *et al.*, 2021) que conferem resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos e enzimas modificadoras de aminoglicosídeos que inativam aminoglicosídeos ao

diminuir a afinidade entre o antimicrobiano e o seu alvo (Bassetti, *et al.*, 2018; Langendonk, *et al.*, 2021).

A modificação do alvo é um mecanismo de resistência descrito na *P. aeruginosa* contra aminoglicosídeos, beta-lactâmicos, fluoroquinolonas e polimixinas (Bassetti, *et al.*, 2018). A resistência às polimixinas é também observada através da modificação da LPS, que é o alvo principal das polimixinas (Bassetti, *et al.*, 2018; Langendonk, *et al.*, 2021). Um dos mecanismos mais frequentes de resistência a fluoroquinolonas são as mutações dos cromossomas nos genes que codificam as subunidades das enzimas ADN girase e topoisomerase IV (Azam & Khan, 2019; Langendonk, *et al.*, 2021).

1.10.5. *Staphylococcus* sp.

O *Staphylococcus* sp. é um género de bactérias Gram-positivas, em forma de cocos, anaeróbias facultativas, imóveis e catalase-positivas. Todas as espécies fazem parte da flora normal da pele e mucosas de mamíferos, sendo patogénicas oportunistas (Cheung & Otto, 2023; Weese & Prescott, 2023). Com base na sua capacidade para produzir coagulase, os estafilococos dividem-se em estafilococos coagulase-positiva e estafilococos coagulase-negativa (Cheung & Otto, 2023). Dentro das espécies coagulase-positiva, as mais importantes em cães são o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus pseudintermedius* (Weese & Prescott, 2023). O *S. aureus* pode ser encontrado em diversos hospedeiros, já o *S. pseudintermedius* é predominantemente encontrado em cães (Cheung & Otto, 2023).

As infeções provocadas pelo *S. aureus* dependem da produção de proteínas de superfície, toxinas e enzimas, da evasão ou inativação do sistema imune e do crescimento e desenvolvimento das bactérias (Ahmad-Mansour, *et al.*, 2021). Alguns estafilococos possuem uma abundância de fatores de virulência que lhes permite escapar às defesas do hospedeiro, tais como cápsula, formação de biofilme, mecanismos que alteram a natureza de estruturas bacterianas (pelas quais o sistema imune reconhece os agentes invasores) e moléculas que bloqueiam mecanismos de defesa do sistema imune como o sistema complemento (Cheung & Otto, 2023). Os biofilmes formados pelos estafilococos fornecem uma resistência inespecífica a quase todos os antimicrobianos (Cheung & Otto, 2023).

A colonização bacteriana tem início na adesão aos tecidos do hospedeiro e os fatores de virulência responsáveis por este processo são as proteínas de superfície denominadas de adesinas (Glajzner, *et al.*, 2022; Cheung & Otto, 2023). As adesinas criam um ambiente onde os estafilococos conseguem persistir (Weese & Prescott, 2023), ao promover a invasão e colonização ativa das células epiteliais do hospedeiro e o consequente desenvolvimento da infeção (Glajzner, *et al.*, 2022). Uma das proteínas de superfície mais importantes é a proteína A que, ao ligar-se a imunoglobulinas, inibe a opsonização e a fagocitose (Carroll, *et al.*, 2021).

A parede celular das bactérias Gram-positivas, contrariamente à das bactérias Gram-negativas, não possui membrana externa e tem uma espessa camada de peptidoglicano que envolve a membrana plasmática e que protege as bactérias do ambiente externo (Jubeh, *et al.*, 2020).

Os estafilococos produzem várias enzimas como, por exemplo, as proteases que são enzimas que têm a capacidade de clivar anticorpos, contribuem para a destruição de proteínas tissulares e potenciam a invasão bacteriana (Weese & Prescott, 2023). A toxina mais importante produzida pelos estafilococos é a alfa-toxina que provoca danos nas células, facilitando a invasão através da camada de queratinócitos (Cheung & Otto, 2023; Weese & Prescott, 2023).

São conhecidos vários mecanismos que conferem ao *S. aureus* resistência contra antimicrobianos beta-lactâmicos. Estes incluem: síntese de uma nova proteína de ligação à penicilina (PBP) denominada de PBP2a, síntese de beta-lactamases e mutações nos genes de PBP (Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022). As proteínas de ligação à penicilina têm um papel fundamental na síntese da parede celular bacteriana e os antimicrobianos beta-lactâmicos inativam estas proteínas, inibindo a síntese da parede celular bacteriana (Morris & Cole, 2023). As estirpes que possuem a proteína PBP2a têm a capacidade de se multiplicar na presença de antimicrobianos beta-lactâmicos porque a PBP2a tem uma afinidade reduzida com estes fármacos (Cheung & Otto, 2023). Estas estirpes demonstram resistência a todos os antimicrobianos beta-lactâmicos, exceto o ceftobiprole e a ceftarolina e são referidas como *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA, *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) (Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022).

O mecanismo mais comum de resistência aos macrólidos, lincosamidas, cetolídeos e estreptograminas B envolve a modificação do alvo do antimicrobiano (Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022). A resistência aos aminoglicosídeos ocorre frequentemente por modificação enzimática do fármaco, o que impede a sua ligação ao alvo. A resistência às fluoroquinolonas tem origem no aumento da expressão de bombas de efluxo e em mutações de genes que codificam as enzimas ADN girase e topoisomerase IV, que resultam na síntese de proteínas com sensibilidade reduzida às fluoroquinolonas. Os mecanismos de resistência às tetraciclinas no *S. aureus* envolvem o efluxo ativo do fármaco e a proteção ribossomal (Jubeh, *et al.*, 2020; Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022).

1.10.6. *Enterococcus* sp.

Os enterecocos são bactérias oportunistas Gram-positivas, em forma de cocos, anaeróbias facultativas que integram a flora microbiana do trato gastrointestinal (Selleck, *et al.*, 2019; Venkateswaran, *et al.*, 2023), podendo ser também encontradas na pele e nas cavidades

oral e nasal de cães (Prescott, *et al.*, 2023). De uma forma geral, as espécies do género *Enterococcus* sp. responsáveis pelo desenvolvimento de ITU são a *Enterococcus faecalis* e a *Enterococcus faecium*, que possuem múltiplos mecanismos que aumentam a sua patogenicidade (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

Os fatores de virulência mais importantes dos enterococos em ITUs estão relacionados com a aderência às células do hospedeiro e a formação de biofilme. A proteína extracelular de superfície promove a adesão primária dos enterococos a superfícies e facilita a formação de biofilme (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023), estando associada à colonização bacteriana e persistência (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023; Venkateswaran, *et al.*, 2023). A substância de agregação desempenha um papel fundamental na adesão às células do hospedeiro (Selleck, *et al.*, 2019; Codelia-Anjum, *et al.*, 2023), na formação de biofilme e é responsável pela agregação bacteriana. A agregação bacteriana é também facilitada por proteases e glicolípidos. A *E. faecalis* produz um biofilme espesso que dificulta a penetração dos antimicrobianos e o biofilme que a *E. faecium* produz contém genes de resistência antimicrobiana (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

Os enterococos produzem enzimas e toxinas que contribuem para a severidade da doença (Selleck, *et al.*, 2019) tais como a hemolisina, que é uma proteína citolítica que provoca a lise dos eritrócitos (Venkateswaran, *et al.*, 2023); a gelatinase, que participa na formação de biofilme e provoca a degradação de colagénio e proteínas do complemento (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023); a hialuronidase, que decompõe o ácido hialurónico para aumentar a permeabilidade do tecido conjuntivo; e a citolisina, que é uma toxina com a capacidade de provocar lise em vários tipos de células através da formação de poros (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023; Venkateswaran, *et al.*, 2023).

A cápsula bacteriana dos enterococos proporciona uma barreira de proteção que lhes permite escapar ao sistema imune. Os enterococos possuem ainda proteínas que regulam a captação de ferro e mantêm a homeostase férrica, possibilitando a sua sobrevivência (Venkateswaran, *et al.*, 2023).

As bactérias do género *Enterococcus* sp. apresentam resistência a um largo espectro de antimicrobianos. Os genes de resistência à vancomicina provocam uma alteração nos péptidos que formam os precursores da parede celular. Estes péptidos são o alvo da vancomicina e a sua alteração impede a ligação do antimicrobiano aos mesmos (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

A enzima modificadora de aminoglicosídeos confere resistência a todos os aminoglicosídeos (Selleck, *et al.*, 2019; Venkateswaran, *et al.*, 2023) excetuando a estreptomicina e a gentamicina (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

A resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos está associada à presença de uma PBP de classe B, mutações da PBP e produção de beta-lactamases (Jubeh, *et al.*, 2020). Os enterococos possuem um gene que codifica uma PBP de classe B para a qual a ampicilina e as cefalosporinas apresentam uma afinidade reduzida (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023; Prescott, *et al.*, 2023).

Os mecanismos de resistência às fluoroquinolonas incluem bombas de efluxo e mutações nos genes dos seus alvos (DNA girase e topoisomerase IV) (Jubeh, *et al.*, 2020) que resultam na diminuição da afinidade de ligação do fármaco ao alvo (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023). As bombas de efluxo conferem também resistência à tetraciclina (Venkateswaran, *et al.*, 2023).

O trimetoprim e o sulfametoxazol inibem as enzimas necessárias para a síntese de ácido fólico, exercendo a sua ação em bactérias que não conseguem adquirir folato de uma fonte exógena (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023). Os enterococos apresentam resistência a estes fármacos por possuírem a capacidade de obter e utilizar folato de produção exógena (Prescott, *et al.*, 2023).

O alvo dos glicopeptídeos são os precursores do peptidoglicano, moléculas que sintetizam o peptidoglicano. Os enterococos alteram a sequência de aminoácidos destes precursores, impedindo a ligação do fármaco ao alvo (Venkateswaran, *et al.*, 2023).

1.10.7. *Streptococcus* sp.

Os estreptococos são bactérias Gram-positivas, catalase-negativa, imóveis, em forma de cocos que se agrupam em pares ou cadeias curtas, anaeróbias facultativas ou obrigatórias (Stewart, 2022; Prescott, *et al.*, 2023). Muitos estreptococos fazem parte da flora normal da cavidade oral, nasofaringe, pele e tratos genital e gastrointestinal, porém, algumas espécies são patogénicas. O *Streptococcus canis* é a espécie mais frequentemente isolada em cães. Esta bactéria é hemolítica e coloniza a faringe, trato gastrointestinal, mucosa genital e pele de cães saudáveis (Prescott, *et al.*, 2023).

Os estreptococos produzem adesinas, que são proteínas de superfície, que se ligam a várias proteínas extracelulares do hospedeiro como a fibronectina, fibrinogénio e colagénio. Estas adesinas fornecem proteção às bactérias contra a opsonização e fagocitose (Stewart, 2022).

O conhecimento da patogénese e fatores de virulência do *S. canis* é atualmente limitado. O fator de virulência mais estudado do *S. canis* é a proteína M (Pagnossin, *et al.*, 2022). Esta proteína possui a capacidade de se ligar ao plasminogénio de diversos animais e protege a bactéria da fagocitose (Bergmann, *et al.*, 2017; Pagnossin, *et al.*, 2022). A interação com o plasminogénio promove a aderência bacteriana e invasão tissular, sendo que esta ocorre através da degradação do fibrinogénio e da fibrina (Pagnossin, *et al.*, 2022).

A aquisição de resistência antimicrobiana pelos estreptococos tem sido mais lenta do que a observada em outras enterobactérias, provavelmente pela transferência horizontal de genes de resistência mais limitada (Stewart, 2022). O *S. canis* possui genes de resistência contra tetraciclina e menos frequentemente, macrólidos, lincosamida e estreptogramina. A

resistência a fluoroquinolonas está associada a substituições de aminoácidos específicos na região determinante de resistência a fluoroquinolonas (Pagnossin, *et al.*, 2022).

1.11. Objetivos

Os objetivos deste estudo incluíram a avaliação da prevalência bacteriana e a descrição dos perfis de sensibilidade aos antimicrobianos das bactérias isoladas nas culturas urinárias de amostras provenientes de cães com suspeita de ITU, ao longo de um ano, num hospital veterinário em Mafra.

2. Material e Métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo no qual foram incluídos cães, com suspeita de ITU, avaliados em consulta no Hospital Veterinário do Atlântico (HVA, localizado em Mafra), cujas amostras de urina foram colhidas por cistocentese e posteriormente submetidas a cultura bacteriana aeróbica e TSA, durante o período de um ano, compreendido entre dia 1 de janeiro de 2021 e 31 de Dezembro de 2021.

As amostras foram enviadas para um laboratório externo (DNAtech) para realização de análise. Nos casos em que não foi possível o envio imediato das amostras para o laboratório, estas foram mantidas em refrigeração e enviadas nas 24h seguintes. O isolamento bacteriano e o perfil antimicrobiano foram realizados de acordo com os padrões do laboratório. Os resultados do TSA classificaram os microrganismos como sensíveis, intermédios ou resistentes aos antimicrobianos testados.

A recolha dos dados foi efetuada com o auxílio do programa informático Orangest (Magnisoft, Oeiras), utilizado no HVA. Os critérios de pesquisa utilizados para aceder à base de dados incluíram o código de faturação referente à urocultura e TSA, executados pelo mesmo laboratório (DNAtech), o ano de 2021 e cães independentemente do género, idade, raça e estado de castração. Foram excluídos animais devido à ausência de resultados de TSA ou ausência de informação relativa à idade e/ou género do animal. Procedeu-se ao registo do género, raça, idade, método de recolha da urina, identificação da estirpe bacteriana e padrão de sensibilidade aos antimicrobianos, para todos os animais incluídos no estudo. As amostras foram classificadas como positivas caso a contagem de CFU/ml de urina fosse igual ou superior a 10^3 e negativas se a contagem fosse inferior a este valor.

Foi realizada uma análise estatística descritiva dos dados utilizando o programa informático Microsoft Office Excel 2007, tendo-se criado gráficos e tabelas para a ilustração dos resultados. Os valores referentes às médias são apresentados sob a forma de média \pm desvio

padrão. Os dados analisados incluíram as amostras positivas e negativas, as informações relativas aos animais como género, idade, raça, os microrganismos isolados e os seus padrões de sensibilidade.

A pesquisa e análise dos dados foi realizada com estrito cumprimento do Regulamento Geral de Proteção de Dados (RGPD) em vigor desde o dia 25 de Maio de 2018.

3. Resultados

A amostra total compreendeu 89 animais, 44 (49,44%) fêmeas e 45 (50,56%) machos. A média de idades foi de $7,08 \pm 4,18$ anos, com a idade mínima de quatro meses e a idade máxima de 15 anos. A esta população corresponderam 98 uroculturas e TSA (para oito destes animais foram realizadas duas ou três uroculturas durante o período do estudo), 51 (52,04%) em fêmeas e 47 (47,96%) em machos, das quais 28 (28,57%) positivas e 70 (71,43%) negativas. As 28 culturas positivas corresponderam a 25 animais (três animais obtiveram um resultado positivo em duas culturas, durante o período do estudo).

Das 28 amostras positivas, 17 (60,71%) foram observadas em cadelas e 11 (39,29%) em cães. A idade média dos 25 animais que apresentaram culturas positivas foi de $8,15 \pm 4,49$ anos (mínimo cinco meses; máximo 15 anos). A distribuição por raça dos animais com culturas positivas está representada na Figura 1. Os animais sem raça definida (SRD) tiveram o maior número de amostras com cultura positiva.

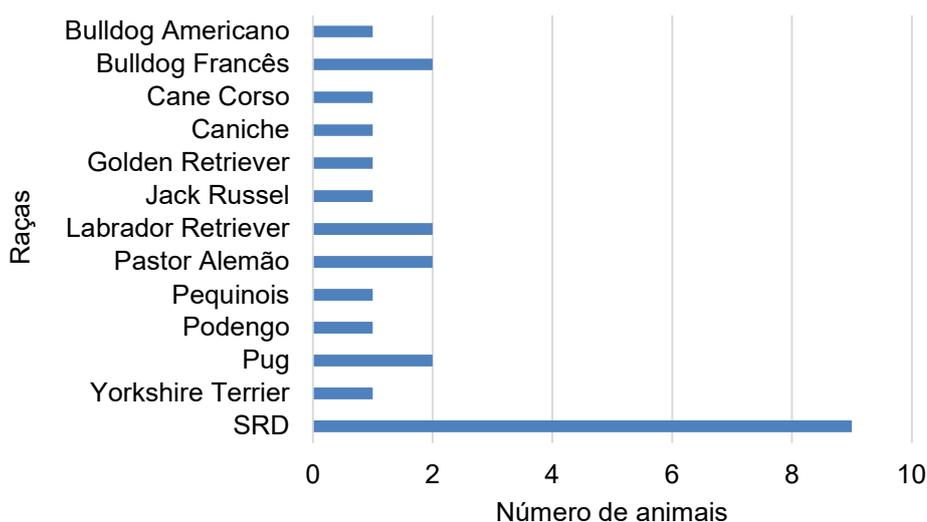


Figura 1. Distribuição por raça dos animais com culturas positivas.

Apenas foi isolado um único agente nas culturas realizadas. A distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas está graficamente representada na figura 2.

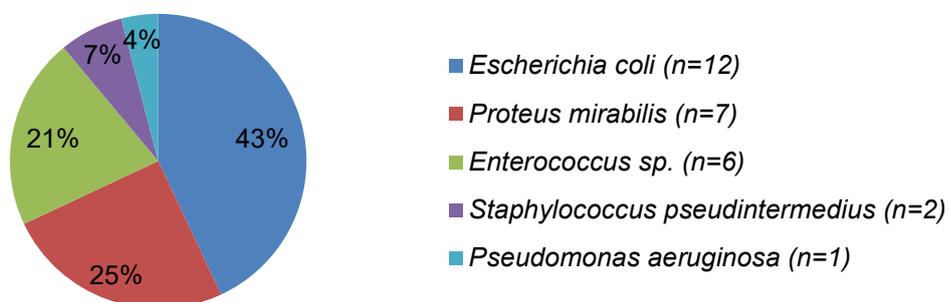


Figura 2. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas.

Foram isolados 17 microrganismos em fêmeas e 11 em machos. As distribuições dos microrganismos por gênero estão representadas nas figuras 3 e 4.

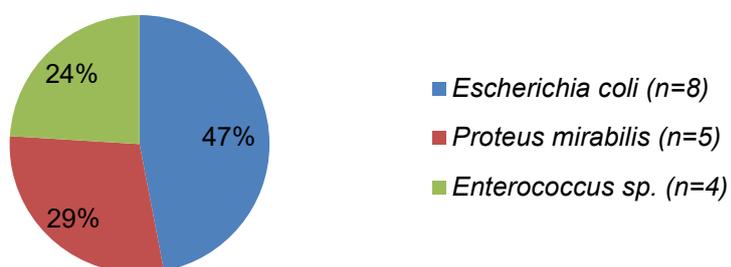


Figura 3. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas de fêmeas.

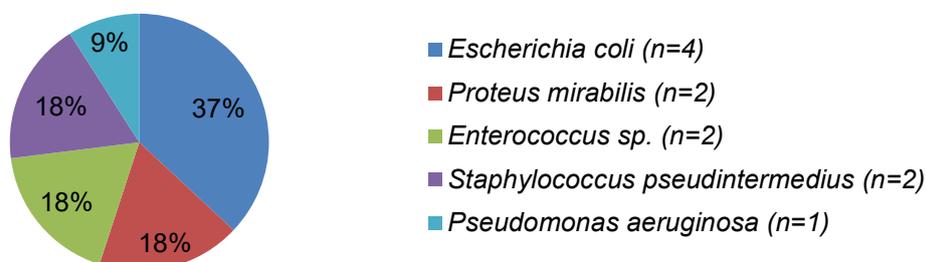


Figura 4. Distribuição dos microrganismos isolados nas uroculturas de machos.

No que se refere à resistência aos antimicrobianos, a proporção de bactérias resistentes relativamente às bactérias testadas foi de 40,0% para a tetraciclina, 37,0% para a doxiciclina, 29,6% para a cefovecina, 28,6% para a cefalexina, 26,9% para a nitrofurantoína, 26,7% para o cefadroxil, 25,9% para a amoxicilina e ácido clavulânico, 23,8% para a amoxicilina, 23,8% para a cefalotina e 21,7% para a ampicilina. A proporção de resistência referente aos outros antimicrobianos representados na Figura 5 foi inferior a 14,4%. Apenas 6 (21,4%) dos 28 microrganismos isolados não apresentaram qualquer resistência, ou seja, a prevalência de bactérias resistentes foi de 78,6%.

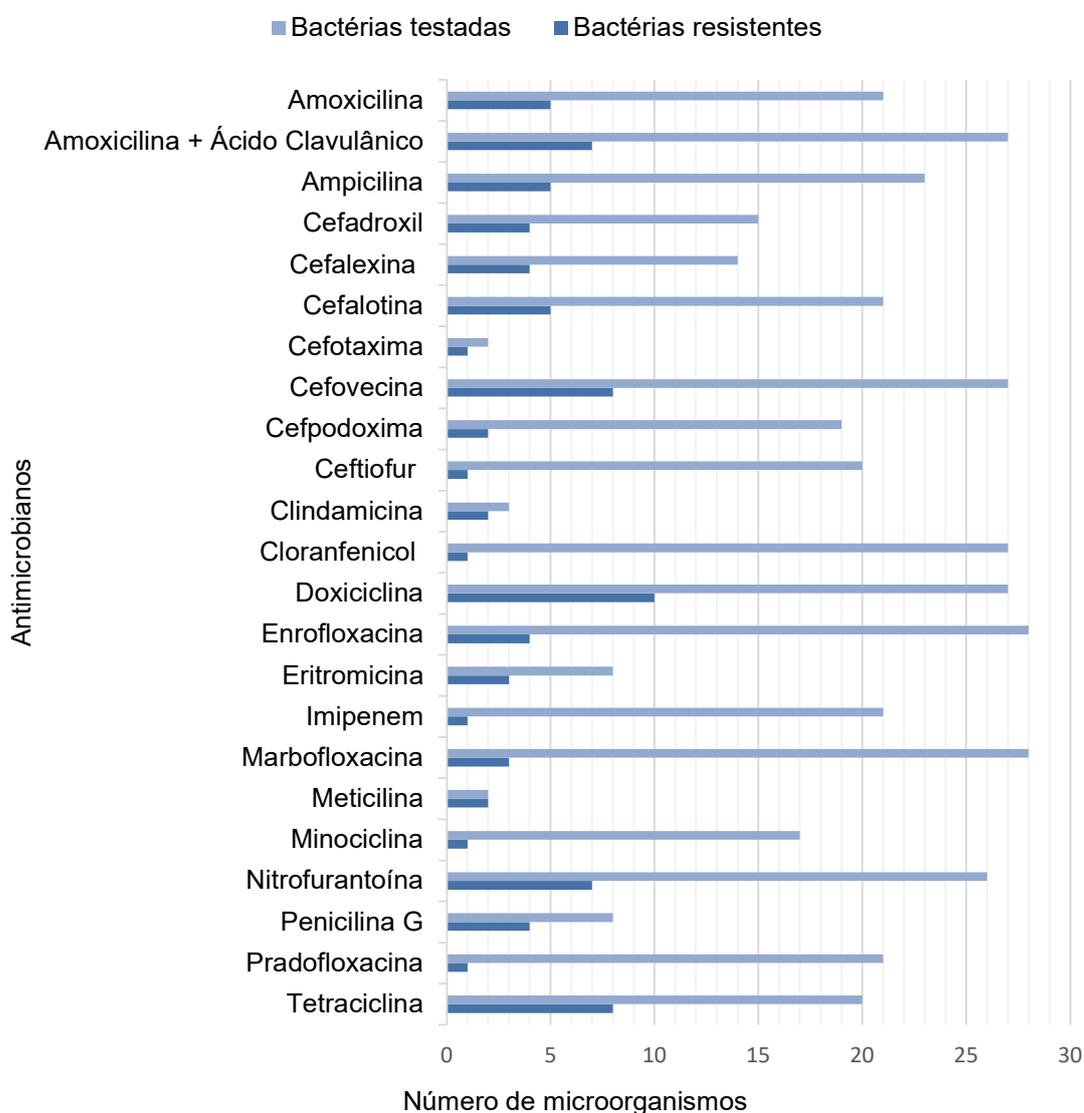


Figura 5. Proporção de bactérias resistentes relativamente às bactérias testadas.

Relativamente aos antimicrobianos aos quais os agentes etiológicos apresentaram uma sensibilidade elevada, embora inferior a 100%, evidenciam-se o cloranfenicol com 96,3% (testado em 96,4% das uroculturas positivas), o imipenem com 95,2% (testado em 75,0% dos microrganismos isolados), a pradofloxacina com 95,2% (testada em 75,0% das amostras positivas), o ceftiofur com 95,0% de sensibilidade (testado em 71,4% dos microrganismos isolados) e a minociclina com 94,1% (testada em 60,7% das uroculturas positivas).

Dos antimicrobianos aos quais os microrganismos apresentaram 100% de sensibilidade, destacam-se o trimetoprim-sulfametoxazol, a gentamicina, a amicacina (testados em 78,6% dos microrganismos) e a neomicina (testada em 67,9% das amostras positivas) (Figura 6).

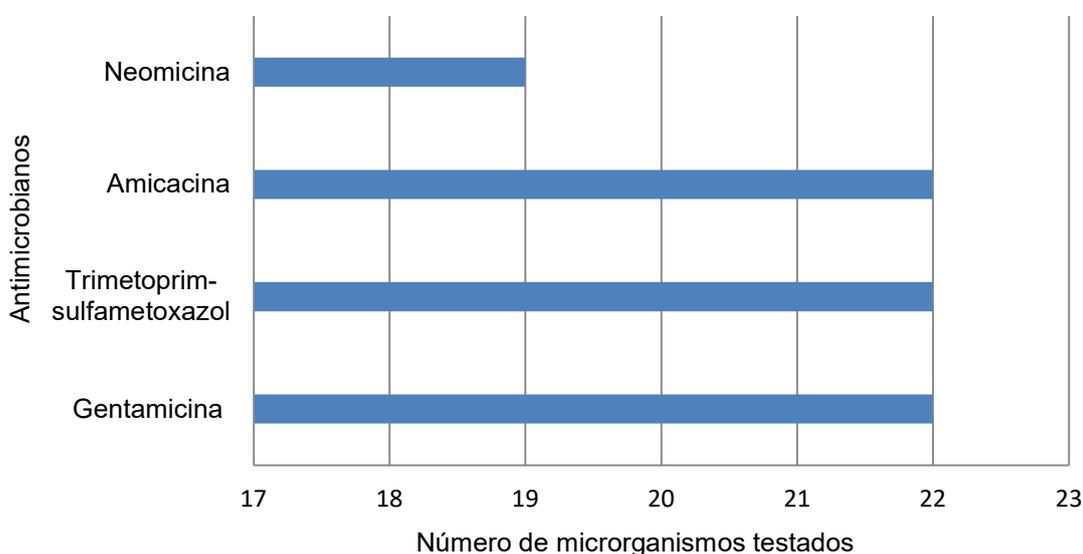


Figura 6. Antimicrobianos aos quais os microrganismos apresentaram 100% de sensibilidade.

3.1. Perfil de sensibilidade *Escherichia coli*

A *E. coli* foi o agente etiológico mais frequentemente isolado nas uroculturas (42,9%). Das 12 bactérias isoladas, seis (50,0%) não apresentaram qualquer resistência aos antimicrobianos testados. As restantes seis bactérias apresentaram resistência a pelo menos um antimicrobiano. Uma das bactérias apresentou resistência a 10 (47,6%) dos 21 antimicrobianos testados. Verificou-se multirresistência em três bactérias, contudo, todas demonstraram sensibilidade ao trimetoprim-sulfametoxazol. O perfil de sensibilidade da *E. coli* para cada antimicrobiano testado está representado na Tabela 2.

Tabela 2. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos *E. coli*.

Antimicrobiano (número de microrganismos testados)	Sensibilidade em percentagem
Amicacina (12)	100,00%
Ceftiofur (12)	100,00%
Ciprofloxacina (1)	100,00%
Gentamicina (12)	100,00%
Imipenem (12)	100,00%
Minociclina (8)	100,00%
Neomicina (12)	100,00%
Nitrofurantoína (12)	100,00%
Trimetoprim-Sulfametoxazol (12)	100,00%
Cefovecina (12)	91,67%
Cloranfenicol (12)	91,67%
Marbofloxacina (12)	91,67%
Pradofloxacina (12)	91,67%
Cefpodoxima (12)	83,33%
Enrofloxacina (12)	83,33%
Tetraciclina (12)	83,33%
Amoxicilina e ácido clavulânico (12)	75,00%
Cefalexina (12)	75,00%
Cefalotina (12)	75,00%
Ampicilina (12)	66,67%
Cefadroxil (9)	66,67%
Doxiciclina (12)	66,67%
Amoxicilina (10)	60,00%

3.2. Perfil de sensibilidade *Proteus mirabilis*

O *P. mirabilis* foi isolado em 25,0% (n=7) das uroculturas positivas. Das sete bactérias isoladas, todas demonstraram resistência à nitrofurantoína e seis (85,7%) apresentaram resistência à doxiciclina e tetraciclina. Foram identificadas duas bactérias multirresistentes desta espécie bacteriana, ambas sensíveis à amoxicilina, amoxicilina e ácido clavulânico e trimetoprim-sulfametoxazol. O perfil de sensibilidade do *P. mirabilis* para cada antimicrobiano está representado na Tabela 3.

Tabela 3. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos *P. mirabilis*.

Antimicrobiano (número de microrganismos testados)	Sensibilidade em porcentagem
Amicacina (7)	100,00%
Amoxicilina (7)	100,00%
Amoxicilina e Ácido Clavulânico (7)	100,00%
Ampicilina (7)	100,00%
Cefadroxil (5)	100,00%
Cefalexina (1)	100,00%
Cefalotina (7)	100,00%
Cefovecina (7)	100,00%
Cefpodoxima (7)	100,00%
Ceftiofur (7)	100,00%
Cloranfenicol (7)	100,00%
Gentamicina (7)	100,00%
Marbofloxacina (7)	100,00%
Minociclina (1)	100,00%
Neomicina (7)	100,00%
Pradofloxacina (7)	100,00%
Trimetoprim-Sulfametoxazol (7)	100,00%
Enrofloxacina (7)	85,71%
Imipenem (7)	85,71%
Doxiciclina (7)	14,29%
Tetraciclina (7)	14,29%
Nitrofurantoína (7)	0,00%

3.3. Perfil de sensibilidade *Enterococcus* sp.

Espécies de *Enterococcus* foram isoladas em 21,4% (n=6) das uroculturas positivas. Das seis bactérias isoladas, todas demonstraram resistência antimicrobiana. Uma das bactérias isoladas apresentou resistência a seis (60,0%) de 10 antimicrobianos testados. Apenas uma bactéria multirresistente foi detetada, sensível à doxiciclina e ao cloranfenicol. O perfil de sensibilidade do *Enterococcus* sp. para cada antimicrobiano está representado na Tabela 4.

Tabela 4. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos *Enterococcus* sp..

Antimicrobiano (número de microrganismos testados)	Sensibilidade em porcentagem
Amoxicilina (3)	100,00%
Ampicilina (3)	100,00%
Cefotaxima (1)	100,00%
Ceftriaxona (1)	100,00%
Cloranfenicol (6)	100,00%
Doxiciclina (6)	100,00%
Florfenicol (4)	100,00%
Imipenem (1)	100,00%
Levofloxacina (1)	100,00%
Linezolida (1)	100,00%
Meropenem (1)	100,00%
Moxifloxacina (1)	100,00%
Nitrofurantoína (5)	100,00%
Tetraciclina (1)	100,00%
Tigeciclina (1)	100,00%
Trimetoprim-Sulfametoxazol (1)	100,00%
Vancomicina (1)	100,00%
Enrofloxacina (6)	83,33%
Minociclina (6)	83,33%
Amoxicilina e Ácido Clavulânico (6)	66,67%
Eritromicina (6)	66,67%
Marbofloxacina (6)	66,67%
Penicilina G (6)	66,67%
Cefovecina (5)	20,00%
Clindamicina (1)	0,00%

3.4. Perfil de sensibilidade *Staphylococcus pseudintermedius*

O *S. pseudintermedius* foi isolado em 7,1% (n=2) das uroculturas. Das duas bactérias isoladas, todas demonstraram resistência à amoxicilina e ácido clavulânico, cefalotina, cefovecina, metilina e penicilina G. Relativamente a bactérias multirresistentes, apenas uma foi isolada, tendo demonstrado sensibilidade ao trimetoprim-sulfametoxazol. O perfil de sensibilidade do *S. pseudintermedius* para cada antimicrobiano está representado na Tabela 5.

Tabela 5. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos *S. pseudintermedius*.

Antimicrobiano (número de microrganismos testados)	Sensibilidade em percentagem
Amicacina (2)	100,00%
Azitromicina (1)	100,00%
Cloranfenicol (2)	100,00%
Doxiciclina (2)	100,00%
Enrofloxacina (2)	100,00%
Florfenicol (2)	100,00%
Gentamicina (2)	100,00%
Marbofloxacina (2)	100,00%
Minociclina (2)	100,00%
Nitrofurantoína (2)	100,00%
Pradofloxacina (2)	100,00%
Trimetoprim-sulfametoxazol (2)	100,00%
Clindamicina (2)	50,00%
Eritromicina (2)	50,00%
Amoxicilina (1)	0,00%
Amoxicilina e ácido clavulânico (2)	0,00%
Ampicilina (1)	0,00%
Cefadroxil (1)	0,00%
Cefalexina (1)	0,00%
Cefalotina (2)	0,00%
Cefixima (1)	0,00%
Cefoperazona (1)	0,00%
Cefotaxima (1)	0,00%
Cefovecina (2)	0,00%
Meticilina (2)	0,00%
Penicilina G (2)	0,00%

3.5. Perfil de sensibilidade *Pseudomonas aeruginosa*

A *P. aeruginosa* foi isolada em apenas uma (3,6%) das uroculturas positivas. O microrganismo isolado mostrou-se sensível aos antimicrobianos testados, exceto à cefovecina e ao ceftiofur. O perfil de sensibilidade da *P. aeruginosa* para cada antimicrobiano está representado na Tabela 6.

Tabela 6. Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos *P. aeruginosa*.

Antimicrobiano (número de microrganismos testados)	Sensibilidade em percentagem
Amicacina (1)	100,00%
Enrofloxacina (1)	100,00%
Gentamicina (1)	100,00%
Imipenem (1)	100,00%
Marbofloxacina (1)	100,00%
Cefovecina (1)	0,00%
Ceftiofur (1)	0,00%

4. Discussão

A idade dos animais que apresentaram amostras positivas foi em média $8,15 \pm 4,49$ anos, sendo a idade mínima cinco meses e a idade máxima 15 anos. Estes dados vão ao encontro do publicado por vários autores (Lanzi, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Westropp & Sykes, 2023). Neste estudo, a média de idades dos animais da amostra foi de $7,08 \pm 4,18$ anos, ou seja, inferior à média de idades dos animais com amostras positivas, o que também vai ao encontro do reportado por Hernando, *et al.*, 2021 e por Aurich, *et al.*, 2022. Estes dados refletem uma predisposição de cães mais velhos ao desenvolvimento de ITU.

Relativamente às culturas de amostras provenientes de fêmeas, 33,3% foram positivas, já nos machos a proporção de culturas positivas foi de 23,4%, demonstrando uma predisposição sexual das fêmeas para ITUs, referida por Aurich, *et al.*, 2022 e Westropp & Sykes, 2023. Do total de amostras positivas, 60,7% pertenciam ao sexo feminino e 39,3% ao sexo masculino. Estes valores coincidem com os intervalos publicados por outros autores que referem percentagens de culturas positivas de fêmeas entre 57,3% e 72,7%, do total de culturas positivas (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022).

Não se verificou qualquer predisposição racial no desenvolvimento de ITU. Os animais SRD corresponderam a 36% das amostras com cultura positiva e as raças mais frequentes incluíram cães das raças Bulldog Francês (8%), Labrador Retriever (8%), Pastor Alemão (8%), e Pug (8%). Num estudo realizado em Portugal (Garcês, *et al.*, 2022), os cães SRD constituíram a maior percentagem de resultados positivos com 38,1% e as raças com maior número de culturas positivas foram o Labrador Retriever e o Bulldog Francês constituindo 9,01% e 5,6% das amostras, respetivamente. Os animais SRD apresentam a maior percentagem de ITU em Portugal possivelmente por estarem representados em maior número nestes estudos ou por serem descendentes de cães de raças com predisposição a ITUs.

Neste estudo três animais obtiveram um resultado positivo em duas culturas. Nas amostras de urina de dois destes animais foram isolados microrganismos diferentes, sendo que

o período entre culturas foi de quatro meses para um (*Enterococcus* sp. e *P. mirabilis*) e de cinco meses para o outro (*Enterococcus* sp. e *S. pseudintermedius*). As uroculturas do terceiro animal revelaram a presença da mesma espécie bacteriana (*E. coli*), porém, com perfis de sensibilidade diferentes. É possível que a bactéria tenha adquirido resistência durante o período compreendido entre as duas culturas, tendo este período sido de um mês.

As bactérias Gram-negativas isoladas foram a *E. coli*, o *P. mirabilis* e a *P. aeruginosa*, tendo estas, no seu conjunto, sido responsáveis por 71,4% das infecções observadas neste estudo. Esta percentagem está de acordo com outros estudos que revelam percentagens de bactérias Gram-negativas em ITUs entre 69,4% e 78,3% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021). A bibliografia também menciona a *Klebsiella pneumoniae* (Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Westropp & Sykes, 2023) e a *Pasteurella* spp. (Bartges & Olin, 2017) como bactérias Gram-negativas frequentemente encontradas, contudo neste estudo não foi identificado nenhum microrganismo pertencente a estes géneros.

As bactérias Gram-positivas isoladas neste estudo pertencem ao género *Enterococcus* sp. e à espécie *S. pseudintermedius*, responsáveis por 28,6% das ITU's, em concordância com diversos estudos cujas percentagens variam entre 21,7% e 30,6% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021). Não foram isoladas bactérias do género *Streptococcus*, embora seja uma das bactérias Gram-positivas mais frequentemente reportadas em ITUs em cães (Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

Os resultados deste estudo também mostram que as fêmeas têm maior incidência de infecções por *P. mirabilis* do que os machos (29,4% vs. 18,2%). No estudo realizado por Aurich, *et al.*, 2022 foi observado que, além do *P. mirabilis*, também o *Staphylococcus* spp. tinha maior probabilidade de ser isolado na urina de fêmeas. Porém, no presente estudo não foi isolada nenhuma bactéria do género *Staphylococcus* spp. nestas. A ausência de ITUs provocadas por este microrganismo em fêmeas pode ser explicada pela dimensão reduzida da amostra.

No que se refere aos antimicrobianos de primeira linha, a proporção de bactérias resistentes relativamente às bactérias testadas foi de 23,8% para a amoxicilina, 25,9% para a amoxicilina e ácido clavulânico e não foi encontrada nenhuma resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol. Estes níveis de resistência aos antimicrobianos de primeira linha reforçam a necessidade da realização de cultura microbiana e TSA, previamente ou após o início da antibioterapia empírica, que geralmente conta com o uso destes fármacos, de acordo com as orientações da ISCAID. Relativamente à resistência aos restantes antimicrobianos, é importante mencionar que embora o valor da proporção de bactérias resistentes à metilina tenha sido de 100%, à clindamicina de 66,7%, à penicilina G de 50,0%, à eritromicina de 37,5% e à cefotaxima de 50,0%, foram testadas menos de 10 bactérias para estes antimicrobianos. Para os antimicrobianos cefixima e cefoperazona foi testado apenas um isolado, resistente a ambos e, por essa razão, não constam na Figura 5. No entanto, a resistência a estas cefalosporinas de 3ª geração sugere que possa estar a haver uma utilização imprudente ou

exagerada destes antimicrobianos. Neste estudo, os antimicrobianos para os quais os microrganismos foram classificados como intermédios foram considerados como sensíveis, de acordo com as categorias de sensibilidade e resistência introduzidas pela EUCAST em 2019.

Foram identificadas sete bactérias multirresistentes nos 28 microrganismos isolados (25,0%) uma percentagem superior à reportada num estudo feito na Alemanha, no qual a proporção de multirresistência foi de 21,9% (Aurich, *et al.*, 2022). Os fármacos aos quais as bactérias multirresistentes apresentaram maior resistência foram a doxiciclina (71,4% de isolados resistentes), a enrofloxacina (57,1%), a tetraciclina (57,1%), a amoxicilina e ácido clavulânico (57,1%) e a cefovecina (42,9%). Do total de bactérias multirresistentes, 85,7% demonstraram sensibilidade à gentamicina, amicacina e trimetoprim-sulfametoxazol. Estes dados indicam que os fármacos supracitados poderão ser opções a considerar em casos de multirresistência.

A avaliação retrospectiva das bactérias mais frequentemente isoladas de amostras de urina de cães com suspeita de ITU e dos seus padrões de resistência antimicrobiana podem orientar os médicos veterinários nas suas escolhas de antimicrobianos de primeira linha para o tratamento da ITU (Yudhanto, *et al.*, 2022).

Este estudo apresentou algumas limitações. Não foi avaliada a presença de eventuais doenças concomitantes durante o processo de pesquisa, não se podendo afirmar que a amostra se encontra livre de afeções que pudessem predispor a infeção.

Do conjunto das amostras positivas foram excluídas as que tinham uma contagem de CFU/ml de urina inferior a 10^3 CFU/ml, contudo, foram incluídas as amostras com resultado positivo que não apresentavam contagem de CFU por não obedecerem ao critério de exclusão. Assume-se que o resultado positivo reportado pelo laboratório tomou em consideração o número mínimo de CFU necessário para se classificar como infeção. Não se podendo afirmar categoricamente que assim o é, faz-se referência a este ponto como limitação.

4.1. *Escherichia coli*

A espécie bacteriana mais frequentemente isolada foi a *E. coli*, correspondendo a 42,9% das amostras com cultura positiva. A bibliografia descreve a *E. coli* como o agente etiológico mais frequente, causando cerca de 50% das ITUs (DiBartola & Westropp, 2020; Westropp & Sykes, 2023). Estudos recentes referem o isolamento desta bactéria entre 45,3% e 59,5% das culturas positivas (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

No que diz respeito aos antimicrobianos testados, a *E. coli* demonstrou 100% de sensibilidade à gentamicina e ao trimetoprim-sulfametoxazol, entre outros. O resultado da sensibilidade a estes fármacos, neste estudo, foi superior comparativamente a outros estudos

(Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022). A sensibilidade da *E. coli* à gentamicina tem sido encontrada em 90,0% a 98,2% dos isolados por outros autores (Marques, *et al.*, 2016; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022). Relativamente ao trimetoprim-sulfametoxazol, foi reportada uma sensibilidade entre 67,6% e 88,8% dos isolados (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022). A sensibilidade de 100%, ao trimetoprim-sulfametoxazol, observada neste estudo pode dever-se à baixa utilização do mesmo no hospital onde foi realizado o estudo.

A resistência antimicrobiana demonstrada pelos isolados de *E. coli* foi de 40,0% para a amoxicilina, 33,3% para a ampicilina e 25,0% para a amoxicilina e ácido clavulânico. Relativamente às cefalosporinas a resistência observada compreendeu valores entre os 8,3% e os 33,3%. A amoxicilina é um dos antimicrobianos de primeira linha recomendados para o tratamento empírico de ITU (Bartges, *et al.*, 2017; Weese, *et al.*, 2019; Foster, 2020; Blondeau, *et al.*, 2021). Embora o seu uso excessivo ou inadequado possa resultar num aumento da resistência antimicrobiana (Bloch, *et al.*, 2022), o elevado nível de resistência da *E. coli* à amoxicilina pode dever-se à produção de ESBLs (Firoozeh, *et al.*, 2022). Estas enzimas inibem a ação dos beta-lactâmicos, como a amoxicilina, a ampicilina e as cefalosporinas, por hidrólise do seu anel beta-lactâmico, resultando na resistência da *E. coli* a estes antimicrobianos (El-Tarabili, *et al.*, 2022). Em diferentes estudos, a ampicilina tem revelado valores de resistência elevados, entre 31,4% e 36,9% (Fonseca, *et al.*, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022), valores semelhantes aos do presente estudo. O valor de 18,8% de resistência à amoxicilina e ácido clavulânico está dentro do intervalo dado por outros estudos que indicam valores de resistência entre os 5,1% e os 48,2% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022). Apesar dos valores de resistência à associação amoxicilina e ácido clavulânico serem inferiores aos valores observados relativamente à amoxicilina, não existem evidências científicas que comprovem a vantagem da amoxicilina e ácido clavulânico comparativamente à amoxicilina isolada no tratamento de ITUs (Bloch, *et al.*, 2022), devido às concentrações de amoxicilina que são atingidas na urina (Weese, *et al.*, 2019).

Relativamente às tetraciclinas, a resistência demonstrada foi de 33,3% para a doxiciclina e 16,7% para a tetraciclina. A resistência às tetraciclinas está associada a genes envolvidos no efluxo ativo do antimicrobiano, proteção ribossomal e degradação enzimática do antimicrobiano (Firoozeh, *et al.*, 2022).

A resistência às fluoroquinolonas foi observada em 8,3% a 16,7% dos isolados. Os mecanismos de resistência a fluoroquinolonas pela *E. coli* incluem: múltiplas mutações na região determinante de resistência às fluoroquinolonas, bombas de efluxo, alterações das proteínas da membrana externa (Firoozeh, *et al.*, 2022) e genes de resistência que codificam proteínas que protegem a DNA girase e a topoisomerase IV (Li, *et al.*, 2023).

4.2. *Proteus mirabilis*

O segundo agente etiológico com maior prevalência foi o *P. mirabilis* correspondendo a 25,0% das culturas com resultado positivo. A percentagem de isolados noutros estudos varia entre 9,1% e 22,7% Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

Segundo Aurich, *et al.*, 2022, o *P. mirabilis* é considerado intrinsecamente resistente às tetraciclínas e nitrofurantoína, o que justifica a sua taxa de resistência de 100% à nitrofurantoína e de 85,7% à tetraciclina e à doxiciclina (fármaco pertencente ao grupo das tetraciclínas). Os mecanismos de resistência do *P. mirabilis* às tetraciclínas incluem genes de resistência em plasmídeos conjugativos e transposões, bombas de efluxo, proteção ribossomal e desativação enzimática do fármaco (El-Tarabili, *et al.*, 2022).

Foi demonstrada uma sensibilidade de 100% dos microorganismos isolados à amoxicilina, amoxicilina e ácido clavulânico, ampicilina e trimetoprim-sulfametoxazol, entre outros. Apesar de terem sido reportados níveis baixos de resistência à amoxicilina e ácido clavulânico, em estudos realizados no Reino Unido e nos Estados Unidos da América (4,8% e 3,4%, respectivamente) (Fonseca, *et al.*, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022), concordantes com os resultados aqui apresentados, num estudo europeu a percentagem de resistência demonstrada pelo *Proteus* spp. a este fármaco em Portugal foi de 50,0% (Marques, *et al.*, 2016). A origem deste valor elevado de resistência pode estar na produção de ESBLs pelo *Proteus* sp. que lhe conferem resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos (Girlich, *et al.*, 2020; El-Tarabili, *et al.*, 2022). No que se refere à resistência à ampicilina, foram observadas, por outros autores, percentagens na ordem dos 11,7% a 14,6% (Fonseca, *et al.*, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022). Estes valores são relativamente baixos, contudo, mais elevados do que neste estudo. Os resultados da resistência demonstrada ao trimetoprim-sulfametoxazol são controversos. Embora estudos realizados fora de Portugal apresentem resistências baixas a moderadas (entre 15,73% e 22,2% (Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022), um estudo observou 46,7% de resistência ao trimetoprim-sulfametoxazol, em Portugal (Marques, *et al.*, 2016), valor que apresenta uma grande discrepância relativamente ao encontrado no presente estudo.

A resistência de 14,3% das bactérias isoladas ao imipenem (antimicrobiano pertencente ao grupo dos carbapenemos) pode estar relacionada com a produção de carbapenemases (beta-lactamases que hidrolisam os carbapenemos) pelo *P. mirabilis*, a fraca afinidade das PBPs com o fármaco ou a perda de porinas, que aumenta a permeabilidade da membrana celular bacteriana ao antimicrobiano (Girlich, *et al.*, 2020).

Foi observada uma resistência de 14,3% à enrofloxacina, que é uma fluoroquinolona. A resistência do *P. mirabilis* às fluoroquinolonas tem origem na proteção do alvo desta classe de antimicrobianos (DNA girase e topoisomerase IV) e em bombas de efluxo específicas ou inespecíficas (Girlich, *et al.*, 2020).

4.3. *Enterococcus* sp.

O *Enterococcus* sp. foi o terceiro microrganismo mais prevalente (21,4%) nas uroculturas positivas. Noutros estudos, apresenta prevalências entre 4,7% e 13,2% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

Relativamente ao seu perfil de sensibilidade, as bactérias isoladas revelaram 100% de sensibilidade à amoxicilina e ampicilina (contudo apenas três dos isolados foram testados para estes fármacos). Outros autores também referem taxas elevadas de sensibilidade para ambos os antimicrobianos (Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022). À associação amoxicilina e ácido clavulânico, tal como à penicilina G, a percentagem de bactérias sensíveis foi de 66,7%. Estudos recentes apontam valores de sensibilidade de 90% à amoxicilina e ácido clavulânico (Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022) e de 23,3% a 90,0% à penicilina (Fonseca, *et al.*, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022). O antimicrobiano para o qual o *Enterococcus* sp. demonstrou uma maior resistência foi a cefovecina (80%). Os valores de resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos (ampicilina, amoxicilina, penicilina G e cefovecina) pode estar relacionada com a presença de uma PBP de classe B, mutações da PBP ou produção de beta-lactamases (Jubeh, *et al.*, 2020).

As fluoroquinolonas para as quais os enterococos demonstraram resistência foram a enrofloxacina (16,7%) e a marbofloxacina (33,3%). Os mecanismos de resistência às fluoroquinolonas incluem bombas de efluxo e mutações nos genes dos seus alvos (Jubeh, *et al.*, 2020) que resultam na diminuição da afinidade de ligação do fármaco ao alvo (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

A sensibilidade à eritromicina foi de 66,7%, valor concordante com estudos semelhantes que observaram percentagens de resistência entre 65,8% e 100% (Fonseca, *et al.*, 2021; Yudhanto, *et al.*, 2022). A resistência dos enterococos à eritromicina pode dever-se a modificações enzimáticas mediadas por genes, como a hidrólise da estrutura do antimicrobiano (Abushaheen, *et al.*, 2020).

A resistência à minociclina (pertencente ao grupo das tetraciclinas) de 16,7% pode estar relacionada com bombas de efluxo (Venkateswaran, *et al.*, 2023) ou com transposões que codificam genes de resistência a antimicrobianos como as tetraciclinas e os glicopeptídeos (Codelia-Anjum, *et al.*, 2023).

4.4. *Staphylococcus pseudintermedius*

De acordo com outros estudos que apresentam prevalências de *Staphylococcus* spp. entre 7,0% e 17,9% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022), as bactérias do género *Staphylococcus* foram

encontradas em 7,1% das amostras. Na bibliografia, os resultados referentes ao *S. pseudintermedius* são apresentados em conjunto com outras bactérias do gênero *Staphylococcus* sp., não sendo possível fazer a distinção entre o perfil de sensibilidade do *S. pseudintermedius* e os perfis de sensibilidade de outros *Staphylococcus*.

As duas bactérias de *S. pseudintermedius* revelaram resistência de 100% a alguns dos principais antimicrobianos de primeira linha (amoxicilina, amoxicilina e ácido clavulânico, ampicilina) e ainda às cefalosporinas, à penicilina G e à meticilina. Ambas demonstraram sensibilidade ao trimetoprim-sulfametoxazol. Outros estudos apresentam resistências à ampicilina entre 36,1% e 80,0% (Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022), à amoxicilina e ácido clavulânico entre 9,7% e 27,1% (Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022), ao trimetoprim-sulfametoxazol entre 6,7% e 31,9% (Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022) e à penicilina G entre 14,3% e 80,0% (Marques, *et al.*, 2016; Fonseca, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022). Os mecanismos que conferem aos *Staphylococcus* spp. resistência contra antimicrobianos beta-lactâmicos incluem: síntese de uma nova proteína de ligação à penicilina denominada de PBP2a, síntese de beta-lactamases e mutações nos genes da PBP (Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022).

A resistência do *S. pseudintermedius* à clindamicina e à eritromicina foi de 50% para ambos os antimicrobianos. O mecanismo mais comum de resistência aos macrólidos (eritromicina) e lincosamida (clindamicina) envolve a modificação do alvo do antimicrobiano (Mlynarczyk-Bonikowska, *et al.*, 2022).

4.5. *Pseudomonas aeruginosa*

O agente etiológico *P. aeruginosa* foi isolado em apenas uma cultura (3,6% do total de amostras positivas). Esta percentagem é concordante com a informação recolhida de outros autores, que mencionam prevalências entre 1,8% e 4,1% (Marques, *et al.*, 2016; Hernando, *et al.*, 2021; Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022).

A *P. aeruginosa* é resistente contra os antimicrobianos de primeira linha (Aurich, *et al.*, 2022), motivo pelo qual não foi testada a sua sensibilidade aos mesmos. Apresentou sensibilidade à gentamicina, amicacina (aminoglicosídeo) e imipenem, fármacos aos quais tem apresentado taxas elevadas de sensibilidade em outros estudos (Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022). A percentagem de sensibilidade referida por outros autores à amicacina e ao imipenem foi de 95,3% para ambos os antimicrobianos (Yudhanto, *et al.*, 2022) e à gentamicina entre 83,3% e 91,7% (Aurich, *et al.*, 2022; Yudhanto, *et al.*, 2022). As bombas de efluxo são o principal mecanismo de resistência da *P. aeruginosa* (Langendonk, *et al.*, 2021) e estão envolvidas na resistência a penicilinas, gentamicina, imipenem, aminoglicosídeos (Azam & Khan, 2019; Langendonk, *et al.*, 2021) e trimetoprim (de Sousa, *et al.*, 2023). A

modificação do alvo é também um mecanismo de resistência descrito na *P. aeruginosa* contra aminoglicosídeos e beta-lactâmicos (Bassetti, *et al.*, 2018).

A resistência demonstrada pela *P. aeruginosa* às cefalosporinas (cefovecina e ceftiofur) pode estar relacionada com bombas de efluxo (Langendonk, *et al.*, 2021), produção de beta-lactamases (Langendonk, *et al.*, 2021) e modificação do alvo (Bassetti, *et al.*, 2018).

5. Conclusão

A determinação da prevalência bacteriana em casos de ITU, ao longo do tempo, fornece informação relevante para a implementação de linhas orientadoras para terapia empírica. A espécie bacteriana isolada com maior prevalência foi a *E. coli* seguida de *P. mirabilis*, *Enterococcus* sp., *S. pseudintermedius* e *P. aeruginosa*.

Este estudo permitiu observar que o trimetoprim-sulfametoxazol, um dos fármacos recomendados pela ISCAID para o tratamento de ITU, revelou ser uma boa opção a utilizar em terapia empírica uma vez que nenhum dos isolados apresentou resistência ao mesmo. Relativamente à amoxicilina e à associação amoxicilina e ácido clavulânico (ambos antimicrobianos de primeira linha), os isolados revelaram resistência em 23,8% e 25,9% dos casos, respetivamente.

Para além da resistência aos antimicrobianos de primeira linha, verificou-se uma prevalência de bactérias multirresistentes de 25,0% dos isolados. Estes resultados realçam a importância da realização de culturas microbianas e TSA na suspeita de ITU e do uso adequado e consciente dos antimicrobianos no tratamento. Perante o contínuo aumento da resistência antimicrobiana, estudos como este são necessários para a avaliação da evolução dos perfis de resistência dos principais agentes etiológicos da ITU, contribuindo assim para a tomada de decisões terapêuticas empíricas adequadas e dirigidas.

6. Bibliografia

- Abushaheen M, Muzaaheed, Fatani A, Alosaimi M, Mansy W, George M, Acharya S, Rathod S, Divakar D, Jhugroo C, Vellappally S, Khan A, Shaik J & Jhugroo P (2020) *Antimicrobial resistance, mechanisms and its clinical significance*.
Doi 10.1016/j.disamonth.2020.100971
- Adams L (2017) Cystoscopy. Em *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* 3^a ed. Elliott J, Grauer G, & Westropp J, British Small Animal Veterinary Association, UK, ISBN 978 1 905319 94 7, pp. 116-119.
- Ahmad-Mansour N, Loubet P, Pouget C, Dunyach-Remy C, Sotto A, Lavigne J, & Molle V (2021) *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. Doi 10.3390/toxins13100677
- Alleman R, & Wamsley H (2017) Complete urinalysis. Em *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* 3^a ed. Elliott J, Grauer G, & Westropp J, British Small Animal Veterinary Association, UK, ISBN 978 1 905319 94 7, pp. 60-83.
- Allerton F, Pouwels K, Bazelle J, Caddy S, Cauvin A, Risio L, Swann J, Warland J & Kent A (2021) *Prospective trial of different antimicrobial treatment durations for presumptive canine urinary tract infections*. Doi 10.1186/s12917-021-02974-y
- Aurich S, Prenger-Berninghoff E & Ewers C (2022) *Prevalence and Antimicrobial Resistance of Bacterial Uropathogens Isolated from Dogs and Cats*. Doi 10.3390/antibiotics11121730
- Azam M & Khan A (2019) *Updates on the pathogenicity status of Pseudomonas aeruginosa*.
Doi 10.1016/j.drudis.2018.07.003
- Babacan O & İzgür M (2021) *Detection of virulence factors of Escherichia coli strains isolated from urogenital system infections in dogs and cats*. Doi 10.33188/vetheder.839260
- Ballash G, Mollenkopf D, Diaz-Campos D, Balen J, Cianciolo R, & Wittum T (2022). *Pathogenomics and clinical recurrence influence biofilm capacity of Escherichia coli isolated from canine urinary tract infections*. Doi 10.1371/journal.pone.0270461
- Bartges J & Olin S (2017) Urinary Tract Infections. Em *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* 3^a ed. Elliott J, Grauer G & Westropp J, British Small Animal Veterinary Association, UK, ISBN 978 1 905319 94 7, pp. 328-336.
- Bassetti M, Vena A, Croxatto A, Righi E & Guery B (2018) *How to manage Pseudomonas aeruginosa infections*. Doi 10.7573/dic.212527
- Bennaïm M, Shiel R & Mooney C (2019) *Diagnosis of spontaneous hyperadrenocorticism in dogs. Part 1: Pathophysiology, aetiology, clinical and clinicopathological features*.
Doi 10.1016/j.tvjl.2019.105342
- Bergmann S, Eichhorn I, Kohler T, Hammerschmidt S, Goldmann O, Rohde M & Fulde M (2017) *SCM, the M Protein of Streptococcus canis Binds Immunoglobulin G*.
Doi 10.3389/fcimb.2017.00080

- Bexfield N & Lee K (2014) *BSAVA Guide to Procedures in Small Animal Practice*, British Small Animal Veterinary Association, Gloucester, UK, ISBN 978 1 905319 67 1, pp. 115-264.
- Bloch R, Papich M & Stürmer T (2022) *Veterinary antimicrobial prescribing practices for treatment of presumptive sporadic urinary tract infections in dogs examined at primary care practices in the United States (2010–2019)*. Doi 10.2460/javma.21.03.0123
- Blondeau J & Fitch S (2021) *In Vitro Killing of Canine Urinary Tract Infection Pathogens by Ampicillin, Cephalexin, Marbofloxacin, Pradofloxacin, and Trimethoprim/Sulfamethoxazole*. Doi 10.3390/microorganisms9112279
- Bowyer G, Loudon K, Suchanek O & Clatworthy M (2022) *Tissue Immunity in the Bladder*. Doi 10.1146/annurev-immunol-101220-032117
- Byron J (2018) *Urinary Tract Infection*. Doi 10.1016/j.cvsm.2018.11.005
- Callens A & Bartges J (2017) Urine Collection. Em *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat* 8^a ed. Ettinger S, Feldman E & Côté E, Elsevier, USA, ISBN 9780323312110, pp. 1168-1172.
- Carroll K, Burnham C & Westblade L (2021). *From canines to humans: Clinical importance of Staphylococcus pseudintermedius*. Doi 10.1371/journal.ppat.1009961
- Chávez-Reyes J, Escárcega-González C, Chavira-Suárez E, León-Buitimea A, Vázquez-León P, Morones-Ramírez J, Villalón C, Quintanar-Stephano A & Marichal-Cancino B (2021) *Susceptibility for Some Infectious Diseases in Patients With Diabetes: The Key Role of Glycemia*. Doi 10.3389/fpubh.2021.559595
- Cheung G & Otto M (2023) *Virulence Mechanisms of Staphylococcal Animal Pathogens*. Doi 10.3390/ijms241914587
- Codelia-Anjum A, Lerner L, Elterman D, Zorn K, Bhojani N & Chughtai B (2023) *Enterococcal Urinary Tract Infections: A Review of the Pathogenicity, Epidemiology, and Treatment*. Doi 10.3390/antibiotics12040778
- Cole S & Rankin S (2023) Isolation and Identification of Aerobic and Anaerobic Bacteria. Em *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* 5^a ed. Sykes J, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 50934 3, pp. 24-29.
- Davidson A (2017) Management of prostatic disease. Em *BSAVA Manual of Canine & Feline Nephrology and Urology* 3^a ed. Elliott J, Grauer G & Westropp J, British Small Animal Veterinary Association, UK, ISBN 978 1 905319 94 7, pp. 300-301.
- de Sousa T, Garcês A, Silva A, Lopes R, Alegria N, Hébraud M, Igrejas G & Poeta P (2023) *The Impact of the Virulence of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Dogs*. Doi 10.3390/vetsci10050343
- DiBartola S & Westropp J (2020) Bacterial Cystitis, Pyelonephritis, and Prostatitis in the Dog and Cat Em *Small Animal Internal Medicine* 6^a ed. Nelson R & Couto C, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 57014 5, pp. 664-673; 704-710.

- Dupont P, Burkhardt W, Boretti F, Riond B, Reusch C, Willi B & Sieber-Ruckstuhl N (2020) *Urinary tract infections in dogs with spontaneous hypercortisolism – frequency, symptoms and involved pathogens*. Doi 10.17236/sat00265
- El-Tarabili R, Ahmed E, Alharbi N, Alharbi M, AlRokban A, Naguib D, Alhag S, El Feky T, Ahmed A & Mahmoud A (2022) *Prevalence, antibiotic profile, virulence determinants, ESBLs, and non- β -lactam encoding genes of MDR *Proteus* spp. isolated from infected dogs*. Doi 10.3389/fgene.2022.952689
- Etedali N, Reetz J & Foster J (2019) *Complications and clinical utility of ultrasonographically guided pyelocentesis and antegrade pyelography in cats and dogs: 49 cases (2007–2015)*. Doi 10.2460/javma.254.7.826
- Etefia E & Ben S (2020) *Virulence Markers, Phylogenetic Evolution, and Molecular Techniques of Uropathogenic *Escherichia coli**. Doi 10.4103/JNSM.JNSM_31_19
- EUCAST (2019) *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 9.0*. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf
- Firoozeh F, Zibaei M, Badmasti F & Khaledi A (2022) *Virulence factors, antimicrobial resistance and the relationship between these characteristics in uropathogenic *Escherichia coli**. Doi 10.1016/j.genrep.2022.101622
- Fonseca J, Mavrides D, Graham P & McHugh T (2021) *Results of urinary bacterial cultures and antibiotic susceptibility testing of dogs and cats in the UK*. Doi 10.1111/jsap.13406
- Foster J (2020) *Urinary Tract Infections in Dogs*. <https://todaysveterinarypractice.com/urology-renal-medicine/urinary-tract-infections-in-dogs/>
- Gajic I, Kabic J, Kekic D, Jovicevic M, Milenkovic M, Culafic D, Trudic A, Ranin L & Opavski N (2022) *Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods*. Doi 10.3390/antibiotics11040427
- Garcês A, Lopes R, Silva A, Sampai F, Duque D & Brilhante-Simões P (2022) *Bacterial Isolates from Urinary Tract Infection in Dogs and Cats in Portugal, and Their Antibiotic Susceptibility Pattern: A Retrospective Study of 5 Years (2017–2021)*. Doi 10.3390/antibiotics11111520
- Girlich D, Bonnin R, Dortet L & Naas T (2020) *Genetics of Acquired Antibiotic Resistance Genes in *Proteus* spp.* Doi 10.3389/fmicb.2020.00256
- Glazner P, Szewczyk E & Szemraj M (2022) *Pathogenic potential and antimicrobial resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from human and animals*. Doi 10.1007/s12223-022-01007-x
- Hernando E, Vila A, D'Ippolito P, Rico A, Rodon J & Roura X (2021) *Prevalence and Characterization of Urinary Tract Infection in Owned Dogs and Cats From Spain*. Doi 10.1016/j.tcam.2021.100512

- Hussein E, Al-Batayneh K, Masadeh M, Dahadhah F, Al Zoubi M, Aljabali A & Alzoubi K (2020) *Assessment of Pathogenic Potential, Virulent Genes Profile, and Antibiotic Susceptibility of Proteus mirabilis from Urinary Tract Infection*.
Doi 10.1155/2020/1231807
- Jessen L, Sørensen T, Bjornvad C, Nielsen S & Guardabassi L (2014) *Effect of antibiotic treatment in canine and feline urinary tract infections: A systematic review*.
Doi 10.1016/j.tvjl.2014.12.004
- Jubeh B, Breijyeh Z & Karaman R (2020) *Resistance of Gram-Positive Bacteria to Current Antibacterial Agents and Overcoming Approaches*. Doi 10.3390/molecules25122888
- Kowalska-Krochmal B & Dudek-Wicher R (2021) *The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance*.
Doi 10.3390/pathogens10020165
- Lamoureux A, Da Riz F, Cappelle J, Boulouis H, Bencheikroun G, Cadoré J, Krafft E & Maurey C (2018). *Frequency of bacteriuria in dogs with chronic kidney disease: A retrospective study of 201 cases*. Doi 10.1111/jvim.15434
- Langendonk R, Neill D & Fothergill J (2021) *The Building Blocks of Antimicrobial Resistance in Pseudomonas aeruginosa: Implications for Current Resistance-Breaking Therapies*.
Doi 10.3389/fcimb.2021.665759
- Lanzi T, Martins M & Romão F (2021) *Retrospective study of bacterial agents found in urine culture of dogs: antimicrobial sensitivity and resistance profile*.
Doi 10.21708/avb.2022.16.1.10403
- Li Y, Kumar S, Zhang L, Wu H & Wu H (2023) *Characteristics of antibiotic resistance mechanisms and genes of Klebsiella pneumoniae*. Doi 10.1515/med-2023-0707
- Liu L, Dong Z, Ai S, Chen S, Dong M, Li Q, Zhou Z, Liu H, Zhong Z, Ma X, Hu Y, Ren Z, Fu H, Shu G, Qiu X & Peng G (2023) *Virulence-related factors and antimicrobial resistance in Proteus mirabilis isolated from domestic and stray dogs*.
Doi 10.3389/fmicb.2023.1141418
- Mancuso G, Midiri A, Gerace E, Marra M, Zummo S & Biondo C (2023) *Urinary Tract Infections: The Current Scenario and Future Prospects*. Doi 10.3390/pathogens12040623
- Manfredi S, Gnudi G, Miduri F, Daga E & Volta A (2019) *Diagnostic and Therapeutic Cystocentesis in Dogs and Cats: Considerations*. Doi 10.19080/JDVS.2019.09.555775
- Marques C, Gama L, Belas A, Bergström K, Beurlet S, Briend-Marchal A, Broens E, Costa M, Criel D, Damborg P, Dijk M, Dongen A, Dorsch R, Espada C, Gerber B, Kritsepi-Konstantinou M, Loncaric I, Mion D, Misic D, Movilla R, Overesch G, Perreten V, Roura X, Steenbergen J, Timofte D, Wolf G, Zaroni R, Schmitt S, Guardabassi L & Pomba C (2016) *European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections*. Doi 10.1186/s12917-016-0840-3
- Martell J (2020) *Immunology of urinary tract infections*. Doi 10.3205/id000065

- Mlynarczyk-Bonikowska B, Kowalewski C, Krolak-Ulinska A & Marusza W (2022) *Molecular Mechanisms of Drug Resistance in Staphylococcus aureus*.
Doi 10.3390/ijms23158088
- Morgan M & Forman M (2015) *Cystoscopy in Dogs and Cats*. Doi 10.1016/j.cvsm.2015.02.010
- Morita Y, Tomida J & Kawamura Y (2014) *Responses of Pseudomonas aeruginosa to antimicrobials*. Doi 10.3389/fmicb.2013.00422
- Morris D & Cole S (2023) *The epidemiology of antimicrobial resistance and transmission of cutaneous bacterial pathogens in domestic animals*. Doi 10.2460/javma.22.12.0557
- Newman J, Floyd R & Fothergill J (2017) *The contribution of Pseudomonas aeruginosa virulence factors and host factors in the establishment of urinary tract infections*.
Doi 10.1093/femsle/fnx124
- Olin S & Bartges J (2015) *Urinary Tract Infections: Treatment/Comparative Therapeutics*.
Doi 10.1016/j.cvsm.2015.02.005
- Paczosa M & Mecsas J (2016) *Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense*. Doi 10.1128/MMBR.00078-15
- Pagnossin D, Smith A, Oravcová K & Weir W (2022) *Streptococcus canis, the underdog of the genus*. Doi 10.1016/j.vetmic.2022.109524
- Patel N, Raval S, Parikh P, Gohil N & Bharai M (2022) Urinalysis in dogs affected with urinary tract infection. *The Pharma Innovation Journal*, 11:2578-2583.
- Piperaki E, Syrogiannopoulos G, Tzouvelekis L & Daikos G (2017) *Klebsiella pneumoniae: Virulence, Biofilm and Antimicrobial Resistance*. Doi 10.1097/INF.0000000000001675
- Pollard R & Phillips K (2017) Diagnostic imaging of the urinary tract. Em *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology* 3^a ed. Elliott J, Grauer G & Westropp J, British Small Animal Veterinary Association, UK, ISBN 978 1 905319 94 7, pp. 84-109.
- Prescott J, Sykes J & Daniels J (2023) Streptococcal and Enterococcal Infections. Em *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* 5^a ed. Sykes J, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 50934 3, pp. 597-602.
- Pulingam T, Parumasivam T, Gazzali A, Sulaiman A, Chee J, Lakshmanan M, Chin C & Sudes K (2021) *Antimicrobial resistance: Prevalence, economic burden, mechanisms of resistance and strategies to overcome*. Doi 10.1016/j.ejps.2021.106103
- Rademacher N (2018) *Diagnostic Imaging of the Urinary Tract*. Doi 10.1016/j.cvsm.2018.10.006
- Reygaert W (2018) *An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria*.
Doi 10.3934/microbiol.2018.3.482
- Ribeiro M, de Morais A, Alves A, Bolaños C, de Paula C, Portilho F, Júnior G, Lara G, Martins L, Moraes L, Riseti Rafaela M, Guerra S, Bello T, Siqueira A, Bertolini A, Rodrigues C, Paschoal N, de Almeida B, Listoni F, Sánchez L & Paes A (2022) *Klebsiella-induced infections in domestic species: a case-series study in 697 animals (1997–2019)*.
Doi 10.1007/s42770-021-00667-0

- Sarowska J, Futoma-Koloch B, Jama-Kmiecik A, Frej-Madrzak M, Ksiazczyk M, Bugla-Ploskonska G & Choroszy-Krol I (2019) *Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic Escherichia coli isolated from different sources: recent reports*. Doi 10.1186/s13099-019-0290-0
- Selleck E, Van Tyne D & Gilmore M (2019) *Pathogenicity of Enterococci*. Doi 10.1128/microbiolspec.GPP3-0053-2018
- Shah C, Baral R, Bartaula B & Shrestha L (2019) *Virulence factors of uropathogenic Escherichia coli (UPEC) and correlation with antimicrobial resistance*. Doi 10.1186/s12866-019-1587-3
- Shankar M, Narasimhappa S & N M (2021) *Urinary Tract Infection in Chronic Kidney Disease Population: A Clinical Observational Study*. Doi 10.7759/cureus.12486
- Sora V, Meroni G, Martino P, Soggiu A, Bonizzi L & Zecconi A (2021) *Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli: Virulence Factors and Antibiotic Resistance*. Doi 10.3390/pathogens10111355
- Stewart G (2022) Streptococcus and Enterococcus. Em *Veterinary Microbiology* 5^a ed. McVey D, Kennedy M, Chengappa M & Wilkes R, Wiley, USA, ISBN 9781119650751, pp. 240-244.
- Storme O, Saucedo J, Garcia-Mora A, Dehesa-Dávila M & Naber K (2018) *Risk factors and predisposing conditions for urinary tract infection*. Doi 10.1177/1756287218814382
- Sula, M & Lane L (2022) The Urinary System. Em *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (7^a ed. Zachary J, Elsevier, Canada, ISBN 978 0 323 71313 9, pp. 722, 756-757.
- Sycamore K, Poorbaugh V, Pullin S & Ward C (2014) *Comparison of urine and bladder or urethral mucosal biopsy culture obtained by transurethral cystoscopy in dogs with chronic lower urinary tract disease: 41 cases (2002 to 2011)*. Doi 10.1111/jsap.12225
- Thomas A, MC A, Ruban S, Shankar B, R S, Revanna P, Suchitra B & Murag S (2023) *Diagnosis of urinary tract infection by urinalysis, ultrasonography and quantitative urine culture*. Doi 10.22271/tpi.2023.v12.i9Sn.22815
- Thornton L, Burchell R, Burton S, Lopez-Villalobos N, Pereira D, MacEwan I, Fang C, Hatmodjo A, Nelson M, Grinberg A, Velathanthiri N & Gal A (2017) *The Effect of Urine Concentration and pH on the Growth of Escherichia Coli in Canine Urine In Vitro*. Doi 10.1111/jvim.15045
- Uddin T, Chakraborty A, Khusro A, Zidan B, Mitra S, Emran T, Dhama K, Ripon K, Gajdács M, Sahibzada M, Hossain J & Koirala N (2021) *Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects*. Doi 10.1016/j.jiph.2021.10.020
- van Dongen A (2017) Pyelonephritis. Em *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat* 8^a ed. Ettinger S, Feldman E & Côté E, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 31211 0, p. 4779.

- Venkateswaran P, Vasudevan S, David H, Shaktivel A, Shanmugam K, Neelakantan P & Solomon A (2023) *Revisiting ESKAPE Pathogens: virulence, resistance, and combating strategies focusing on quorum sensing*. Doi 10.3389/fcimb.2023.1159798
- Wang G, Zhao G, Chao X, Xie L & Wang H (2020) *The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of Klebsiella pneumoniae*. Doi 10.3390/ijerph17176278
- Weese J & Prescott J (2023) Staphylococcal Infections. Em *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat 5^a* ed. Sykes J, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 50934 3, pp. 611-613.
- Weese J, Blondeau J, Boothe D, Guardabassi L, Gumley N, Papich M, Jessen L, Lappin M, Rankin S, Westropp J & Sykes J (2019) *International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats*. Doi 10.1016/j.tvjl.2019.02.008
- Wenzler E, Maximos M, Asempa T, Biehle L, Schuetz A & Hirsch E (2023) *Antimicrobial susceptibility testing: An updated primer for clinicians in the era of antimicrobial resistance: Insights from the Society of Infectious Diseases Pharmacists*. Doi 10.1002/phar.2781
- Westropp J & Sykes J (2023) Infections of the Genitourinary Tract. Em *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat 5^a* ed. Sykes J, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 50934 3, pp. 1669-1680.
- Wood M (2017) Lower Urinary Tract Infections. Em *Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat 8^a* ed. Ettinger S, Feldman E & Côté E, Elsevier, USA, ISBN 978 0 323 31211 0, pp. 4809-4814.
- Yadav S, Ahmed N, Nath A, Mahanta D & Kalita M (2020) *Urinalysis in dog and cat: A review*. Doi 10.14202/vetworld.2020.2133-2141
- Yuan F, Huang Z, Yang T, Wang G, Li P, Yang B & Li J (2021) *Pathogenesis of Proteus mirabilis in Catheter-Associated Urinary Tract Infections*. Doi 10.1159/000514097
- Yudhanto S, Hung C, Maddox C & Varga C (2022) *Antimicrobial Resistance in Bacteria Isolated From Canine Urine Samples Submitted to a Veterinary Diagnostic Laboratory, Illinois, United States*. Doi 10.3389/fvets.2022.867784