

Importância da Coleta e Análise de Líquido Ruminal e Urina¹

Jan Bouda

Gerardo F. Quiroz-Rocha

Félix H. D. González

Na maioria dos transtornos ruminais e metabólicos, as alterações iniciais podem ser detectadas no líquido ruminal, na urina e no leite, pois nestas alterações as mudanças nos valores de referência são significativamente mais evidentes nesses líquidos do que no próprio sangue. Durante as doenças subclínicas, os desvios dos valores normais no sangue são muito pequenas devido aos mecanismos de homeostase. Por isso, é muito importante o diagnóstico mediante exames de laboratório simples no líquido ruminal e na urina, que possam ser realizados em condições de campo.

A análise do líquido ruminal e da urina pode ser realizada mediante provas e equipamentos muito mais simples e baratos, que aqueles usados comumente nas determinações específicas do sangue.

Obtenção e análise da amostra de líquido ruminal

Material necessário:

1. sonda ruminal com bomba de dupla via;
2. sonda ruminal especial com capacidade de conexão na máquina de ordenha (vácuo).

Obtenção de líquido ruminal em animais sem sinais clínicos:

Três a cinco horas depois da alimentação com concentrados ou quatro horas depois da 1ª alimentação com dieta integral. Para a determinação do pH da amostra, é necessário considerar que ao extrair o líquido ruminal por sucção mediante sondagem ruminal, existe o risco de contaminação com saliva e, portanto, de aumento do valor do pH. Por isso, se recomenda eliminar os primeiros 100 a 200 mL de líquido ruminal, para depois coletar a amostra.

Exame do líquido ruminal

Em condições de campo ou de estábulo, imediatamente após a sua obtenção:

1. Cor: a coloração normal do líquido ruminal pode variar de forma normal desde o verde oliva, o verde marrom até o verde cinzento, de acordo com o tipo de alimentação que o animal receba. Dentro das anormalidades na coloração podem ser encontradas as seguintes: cor leitoso-cinza na acidose ruminal; cor verde escuro na alcalose ruminal ou na putrefação ruminal.

¹ Bouda, J.; Quiroz-Rocha, G.; González, F. H. D. (2000) Importância da coleta e análise de líquido ruminal e urina. In: González, F. H. D.; Borges, J. B.; Cecim, M. (Eds.). *Uso de provas de campo e de laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos*. Porto Alegre, Brasil, Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

2. Cheiro: o normal do líquido ruminal pode definir-se como “aromático, não repulsivo”. Entretanto, cheiros anormais perceptíveis são o ácido-picante na acidose ruminal, ou o pútrido-amoniaco na putrefação do conteúdo ruminal.
3. Consistência (viscosidade): a consistência normal é levemente viscosa, enquanto que a consistência aquosa sugere acidose ruminal aguda.
4. Sedimentação e flutuação: a prova consiste em deixar em repouso uma amostra de líquido ruminal e medir o tempo em que aparecerem os eventos de sedimentação-flutuação. O tempo normal esperado para isto é de 4 a 8 minutos, enquanto que a ausência de um desses eventos ou a modificação deste valor poderá ser considerada como anormalidade (por exemplo, ausência de flutuação na acidose ou na indigestão simples).
5. Determinação do pH: esta determinação pode ser obtida mediante potenciômetro portátil, esperando que o valor registrado se encontre dentro do intervalo de pH de 6,0 a 7,0 (6,4 a 7,0 em dietas ricas em fibra e 6,0 a 6,6 em dietas de alto conteúdo de concentrado). Os valores obtidos fora desse intervalo, para cima ou para baixo, são considerados como patológicos: assim, pH 3,8 a 5,0 presente na acidose aguda; pH 5,1 a 5,9 presente na acidose ruminal subaguda; pH 7,3 a 8,5 na alcalose ruminal.
6. Determinação da atividade redutiva bacteriana: para esta prova adicionam-se 0,5 mL de azul de metileno solução 0,03% em uma amostra de 10 mL de líquido ruminal imediatamente após a sua coleta e se compara com outra amostra de líquido ruminal testemunha (sem o corante) do mesmo animal. Mede-se o tempo transcorrido desde a adição do colorante até a degradação do mesmo dentro da amostra, até ficar igual com a amostra testemunha. Os tempos são interpretados assim: microflora normal: 3 a 6 minutos; indigestão simples: mais de 8 minutos e acidose aguda: mais de 30 minutos.
7. Avaliação de protozoários: as características mais importantes a avaliar são a densidade de população e a intensidade de movimentos destes microorganismos, pois por seu tamanho podem ser observados, inclusive ao olho nu, em uma amostra recém coletada. A observação poderá ser feita de forma direta em um tubo de vidro ou em uma gota de líquido em uma lâmina com lamínula sob o microscópio óptico com aumento de 100x.

Tabela 2. Valores normais de líquido ruminal em bovinos leiteiros.

Parâmetro	Intervalo
pH	6,0 a 7,0
Atividade redutiva	3 a 6 minutos
Amônia (NH ₃)	6,0 a 17,5 mmol/L
Ácidos graxos voláteis totais	80 a 120 mmol/L
Acido acético	55 a 65%
Acido propiônico	15 a 25%
Acido butírico	10 a 15%
Acido láctico	0 a 3,3 mmol/L
Cloro (Cl ⁻)	15 a 25 mmol/L
Protozoários	2-4 x 10 ⁸ /L

Obtenção e análise de amostras de urina

O exame e a análise da urina são considerados como uma ferramenta básica muito importante para o médico veterinário no diagnóstico, especialmente dos transtornos que ocorrem de forma subclínica (acetonemia, acidose ruminal), bem como para o estabelecimento de prognóstico em muitos deles.

Para a coleta de amostra de urina em vacas é necessário manter preso o animal e lavar e desinfetar a região perianal. Após desinfecção da região, o operador localiza com o dedo indicador o “fundo de saco” do divertículo sub-uretral e depois, retraindo levemente o dedo, se encontra o meato urinário, localizado entre 0,5 a 1,0 cm do final do divertículo. Depois, se levanta com o mesmo dedo a prega que cobre o divertículo, enquanto se introduz um catéter estéril, o qual deve passar pelo lado do dedo indicador em direção crânio-ventral. Se a bexiga estiver cheia, a urina sairá imediatamente pelo catéter. Do contrário, será necessário mexer suavemente o catéter no interior da bexiga urinária ou então poderá introduzir-se ar mediante uma seringa limpa e estéril para criar a distensão da bexiga de forma que a urina saia quando aquela se retrair. Não funcionando este procedimento, poderá supor que o animal teve micção recente e sugere-se tentar de novo o procedimento 20 minutos mais tarde.

Exame de urina

- **Cor:** em uma amostra normal, a coloração da urina é amarela clara a escura leve. A urina incolor-aquosa é indicativo de excreção aumentada (poliúria), ingestão aumentada de água, acetonemia ou insuficiência renal grave. Cor amarela ouro indica redução da diurese como ocorre em doença febril ou em transtornos gerais graves. Cor vermelha-marrom a vermelha-escura corresponde a presença de sangue ou hemoglobina. Uma forma prática de distinguir estas duas alterações é deixar a amostra em repouso durante 15 minutos. Se passado esse tempo se observa um sedimento vermelho, existe hematúria, ou seja, hemácias na urina; se não existe a formação do sedimento, se determina que existe hemoglobinúria. Adicionalmente, na hematúria se observa turbidez, enquanto que na hemoglobinúria o aspecto é transparente e a cor freqüentemente é parecida com o vinho tinto. Podem estar presentes as duas alterações.
- **Viscosidade:** a normal é líquido aquosa. Em processos pielonefríticos pode adquirir consistência mucosa pela presença de muco ou pus.
- **Transparência:** normalmente é clara.
- **Cheiro:** de forma normal se caracteriza por ser levemente aromático. O cheiro adocicado é freqüente na acetonemia, enquanto que o aroma amoniacal pode assinalar a presença de infecção bacteriana.
- **pH:** o pH normal da urina pode chegar a variar dentro do intervalo de 7,7 a 8,4, medido com potenciômetro ou com fitas reagentes. Alterações possíveis são: pH baixo na acidose e, normalmente, nos terneiros (pH 5,0 a 6,0); pH elevado na alcalose, pielonefrite e cistite.
- **Proteínas:** na urina normal, as proteínas deverão estar ausentes embora em algumas circunstâncias podem aparecer em quantidades muito baixas (até 10 mg/L). Se a determinação é pela prova de precipitação com ácido sulfosalicílico não deverão ser detectadas na amostra. O fundamento dessa prova, é que existindo proteína na urina, haverá precipitação ao entrar em contacto com o ácido. O procedimento consiste no seguinte: colocar 5 mL de urina em um tubo de ensaio limpo e adicionar 1mL de ácido sulfosalicílico a 20%, misturar por agitação e depois estimar a quantidade de proteínas pelo grau de turbidez da mescla. Com o propósito de poder avaliar a mudança, é útil colocar qualquer marca escrita (letras) na parte posterior do tubo e observar a través do tubo problema, comparando também com uma amostra testemunha sem reagente do próprio animal. O critério de leitura é o seguinte:

Resultado	Significado
negativo	não há turbidez
+	turbidez leve (a letra é legível)
++	turbidez moderada (a letra é ilegível)
+++	precipitação (suspensão)
++++	coagulação imediata

Interpretação

A presença de proteína na urina é um evento freqüentemente associado a qualquer processo inflamatório ou a nefrose. Algumas das interpretações das possíveis mudanças com relação à presença de proteínas na urina são as seguintes:

Resultado	Significado
+	reticuloperitonite traumática localizada crônica
++	reticuloperitonite traumática localizada aguda
+++	hepatite e esplenite traumática
++++	peritonite difusa
urina turva	nefrite, pielonefrite
não turva	nefrose

Devido a que a urina normal do bovino é alcalina, no caso de fazer determinações de proteína mediante fitas reativas (Multistix, Labstix, Combur-test), é freqüente o aparecimento de reações falso-positivas.

A proteinúria pode ser fisiológica em terneiros com 1-36 horas de nascidos. A proteinúria pré-renal é observada na hemoglobinemia e na hemoglobinúria. Proteinúria renal ocorre em nefrose, nefrite e pielonefrite e a proteinúria pós-renal na cistite, na uretrite e na urolitíase.

- Corpos cetônicos: na urina normal não existem corpos cetônicos e, se existirem, deverá ser de forma insignificante (< 7 mg/mL). Provas para detectar corpos cetônicos incluem:
 1. fitas reativas (Multistix, Ketostix, Labstix e Combur-test): é uma prova sensível e específica para o ácido acetoacético (reação positiva rosa a ++++ púrpura);
 2. tabletes reagentes Acetest (Ames Co.);
 3. prova de Lestradet;
 4. prova de Rothera.

Alguns dos transtornos que podem cursar com cetonúria são: cetose das vacas, doenças associadas com o catabolismo (mastite, metrite) e deslocamento de abomaso.

- Sangue: existem no mercado fitas reagentes comerciais que permitem esta determinação. A presença de hematúria ou de hemoglobinúria é um achado comum em alterações tanto locais como sistêmicas: assim, hematúria é observada em pielonefrite, nefrite embólica, urolitíase e hematúria vesical crônica. A hemoglobinúria observa-se na hemoglobinúria pós-parto, babesiose, hemoglobinúria bacilar, leptospirose e na intoxicação crônica por cobre.

Referências bibliográficas

- Bouda, J., Paasch, M. L. & Yabuta, O. A. Desarrollo y empleo de diagnóstico preventivo de los trastornos ruminales y metabólicos en bovinos. *Veterinaria México* 28, 189-195. 1997.
- Bouda, J., Paasch, M. L., Dvorák, R., Yabuta, O. A. & Doubek, J. Portable equipment for collection and analysis of ruminal fluid and urine, for diagnosis and treatment of ruminal and metabolic diseases. *Proceedings of the XIXth World Buiatrics Congress, Edinburgh*, 3, p. 248. 1996.
- Bouda, J., Paasch, M. L., Dvorák, R., Yabuta, O. A., Doubek, J. & Jardón, H. S. G. Equipo portátil para obtener y analizar el líquido ruminal y orina. (Portable equipment for obtaining and analyzing ruminal fluid and urine). Registered patent in Mexico, p. 1-26. 1999.
- Dirksen, G. Rumen function and disorders related to production diseases. *Proceedings of the VIIth International Symposium on Production Disease in Farm Animals. Ithaca, N. York*, p. 350. 1989.
- Nordlund, K. V., Garrett, E. F. & Oetzel, G. R. Herd-based rumenocentesis: A clinical approach to the diagnosis of subacute rumen acidosis. *Compendium Continuing Education Practice Veterinary (Supplementum Food Animal Medicine and Management)* 17, 48-56. 1995.