



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**ESPECIALIZACIÓN EN DIAGNÓSTICO VETERINARIO DE  
LABORATORIO**

**TRABAJO FINAL INTEGRADOR**

**Detección y caracterización de proteinuria en caninos sin  
azotemia**

**Autora: MV. Cecilia Tocarello**

**Directora: Dra. María Sandra Arauz**

**Codirectora: Dra. Paula Lorena Martin**

**Cohorte 2018**

# Índice

---

<b>Resumen</b>	Página 3
<b>Abstract</b>	Página 4
<b>Introducción</b>	Página 5
<i>Clasificación de la proteinuria</i>	Página 7
<i>Detección de la proteinuria</i>	Página 8
<i>Localización, monitoreo y cuantificación</i>	Página 11
<i>Importancia de la detección de la proteinuria</i>	Página 11
<b>Hipótesis</b>	Página 12
<b>Objetivos</b>	Página 12
<b>Materiales y Métodos</b>	Página 12
<i>Muestras</i>	Página 12
<i>Pruebas hematológicas, bioquímicas y análisis de orina para determinar el estado de salud</i>	Página 13
<i>Detección de proteínas en orina a través de la utilización de la técnica semicuantitativa de tiras reactivas y la técnica cuantitativa colorimétrica con Rojo de Pirogalol</i>	Página 18
<i>Caracterización de las muestras como “proteínúricas”, “proteinuria limítrofe” o “no proteinúricas”</i>	Página 19
<i>Análisis estadístico</i>	Página 20
<b>Resultados</b>	Página 20
<i>Descripción de las muestras</i>	Página 20
<i>Detección de la proteína en orina a través de la utilización de la técnica semicuantitativa de tiras reactivas y la técnica cuantitativa colorimétrica con Rojo de Pirogalol</i>	Página 21
<i>Caracterización de las muestras como “proteínúrica”, “proteinuria limítrofe” o “no proteinúrica”</i>	Página 23
<i>Asociación entre las variables sexo y edad con la presencia de proteinuria</i>	Página 24
<b>Discusión y conclusiones</b>	Página 24
<b>Bibliografía</b>	Página 26

## Resumen

---

La proteinuria constituye un marcador de eventos clínicamente importantes en el riñón debido a que puede ocurrir y posteriormente variar en magnitud por alteración de la permeabilidad vascular del glomérulo o por función tubular alterada de las proteínas filtradas (por disfunción tubulointersticial) o ambos. Los objetivos de este trabajo fueron detectar la proteinuria en caninos adultos y gerontes sin signos clínicos aparentes de nefropatías, mediante la utilización de diferentes técnicas de laboratorio, caracterizar a los pacientes como proteinúrico, limítrofe o no proteinúrico mediante la determinación del cociente proteína/creatinina en orina (PCU) y evaluar la asociación entre las variables sexo y edad con la presencia de proteinuria. Se utilizaron muestras provenientes de pacientes caninos domésticos clínicamente sanos con autorización de los tutores o tenedores responsables. Para el análisis de orina, las muestras fueron recolectadas por micción espontánea en recipientes estériles de poliestireno con tapa a rosca de cierre hermético. El procesamiento físico-químico y del sedimento urinario se realizó dentro de las 6 horas a partir de la toma de muestra. El 13,3% y el 20% de los pacientes aparentemente sanos presentaron proteinuria positiva y limítrofe respectivamente. Con respecto a la variable “edad”, se observó que todas las muestras caracterizadas como “proteinúrica” o “proteinuria limítrofe”, correspondieron a animales gerontes. No obstante, la asociación entre proteinuria y categoría geronte no fue significativa ( $p > 0,05$ ). En cuanto al sexo, los machos presentaron mayor proporción que las hembras, en ambos grupos, pero la asociación no fue significativa ( $p > 0,05$ ). Estos hallazgos enfatizan que la medición de la proteinuria y posterior caracterización del paciente según la relación PCU debe ser parte de los controles rutinarios de salud en caninos gerontes. Considerando estos resultados, futuros estudios son necesarios para evaluar más en detalle la evolución de estos pacientes hacia una proteinuria persistente, su origen y el desarrollo de una insuficiencia renal crónica.

**Palabras clave:** Proteinuria; Cociente proteína/creatinina; Insuficiencia renal.

## **Title: Detection and characterization of proteinuria in canines without azotemia.**

### **Abstract**

---

Proteinuria is a marker of clinically important events in the kidney because it may occur and subsequently vary in magnitude due to impaired glomerular vascular permeability and/or impaired tubular function (tubulointerstitial dysfunction). The aims of this work were to detect proteinuria in adult and elderly canines without apparent clinical signs of nephropathies using different laboratory techniques, characterize patients as proteinuric, borderline or non-proteinuric by determining the protein/creatinine (PCU) ratio in urine and evaluate the association between sex and age variables with the presence of proteinuria. Samples from clinically healthy domestic canine patients were used with the authorization of the responsible owners or keepers. For urinalysis, samples were collected by spontaneous urination in sterile polystyrene containers with a hermetic screw-top lid. The physicochemical and urinary sediment processing was carried out within 6 hours from sample obtention. Considering apparently healthy patients, 13.3% and 20% had positive and borderline proteinuria, respectively. Regarding the variable "age", it was observed that all the samples characterized as "proteinuric" or "borderline proteinuria" corresponded to older animals. However, the association between proteinuria and elderly category was not significant ( $p>0.05$ ). Regarding sex, males presented a higher proportion than females, in both groups, but the association was not significant either ( $p>0.05$ ). These findings emphasize that the measurement of proteinuria and the subsequent characterization of the patient according to the PCU ratio should be part of routine health assessments in managing canine patients. Considering these results, future studies are necessary to evaluate in more detail the evolution of these patients towards persistent proteinuria, its origin and the development of chronic renal failure.

**Keywords:** Proteinuria; Protein/Creatinine ratio; Renal failure.

## Introducción

---

El riñón es un órgano fundamental para la vida de los mamíferos debido a que desempeña un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis al controlar la excreción de solutos y agua y mantener constante la composición y el volumen de los líquidos corporales. Dentro de las principales funciones de este órgano se encuentran la excreción y secreción de diversas sustancias (García Sacristán, 1996). Entre las primeras, se pueden mencionar el mantenimiento de las concentraciones adecuadas de solutos y volumen corporal, eliminación de los productos finales del metabolismo (urea, ácido úrico, etc.) y sustancias extrañas (fármacos, pesticidas, aditivos alimentarios, etc.) y regulación del equilibrio ácido-base. Mientras que, entre las segundas, el riñón secreta sustancias como la eritropoyetina, la renina, la forma metabólica activa de la vitamina D y ciertas prostaglandinas, entre otras (Hall, 2016).

Cuando alguno de los procesos mencionados se ve alterado se presenta como consecuencia la disfunción renal o nefropatía. En términos generales, enfermedad y daño renal se utilizan para denotar la presencia de lesiones renales, pudiendo ser en cuanto a su duración agudas o crónicas (Grauer, 2005). El daño renal agudo con frecuencia resulta de procesos isquémicos o tóxicos y, por lo general, afecta la porción tubular de la nefrona. Mientras que, el daño renal crónico puede ser causado por enfermedades y / o trastornos que afectan a cualquier parte de la nefrona, incluido el suministro de sangre y el intersticio (Grauer, 2005; Nelson y Couto, 2005).

La detección temprana de un proceso agudo facilita la intervención apropiada que puede evitar o atenuar el daño de las células tubulares y el desarrollo de una enfermedad aguda establecida. Del mismo modo, la detección temprana de la enfermedad renal, antes del inicio de azotemia e insuficiencia renal crónica, facilita la instauración de un tratamiento

adecuado que estabilice la función renal o al menos enlentezca su progresión (Grauer, 2005; Smets y col., 2010).

Los marcadores tradicionales de enfermedad renal son herramientas útiles en el diagnóstico y monitoreo de los pacientes y pueden ser generalmente divididos en marcadores de tasa de filtración glomerular (TFG) o marcadores de daño y / o disfunción glomerular o tubular (Nabity, 2018). Dentro de los marcadores de TFG las mediciones de creatinina y urea en suero son las más utilizadas en la práctica clínica (Nabity, 2018; De Loor y col., 2013). La determinación de estos metabolitos presenta como ventaja que constituyen métodos rápidos y no invasivos. No obstante, tienen una serie de limitaciones que imposibilitan su uso en el diagnóstico temprano de enfermedad renal, principalmente porque el aumento de estos metabolitos en suero se presenta luego de que más del 75% de la función renal ha sido afectada (Nabity, 2018). Mientras que como marcadores de daño y/o disfunción glomerular o tubular, la determinación de proteinuria, densidad urinaria, glucosuria y presencia de cilindros en el sedimento urinario constituyen las principales técnicas actualmente utilizadas (Grauer, 2005; Nabity, 2018).

Además de su importancia como marcador temprano de enfermedad renal la pérdida intensa de proteínas en orina ocasiona complicaciones como hipoalbuminemia, edema, ascitis, hipercolesterolemia, hipertensión e hipercoagulabilidad y existen cada vez más pruebas en animales de laboratorio y seres humanos que la proteinuria puede causar daño glomerular y tubulointersticial y contribuir a la naturaleza progresiva de la enfermedad renal canina (Grauer, 2005). Por otra parte, la proteinuria constituye un marcador de eventos clínicamente importantes en el riñón debido a que puede ocurrir y posteriormente variar en magnitud por alteración de la permeabilidad vascular del glomérulo (posiblemente marcando la presencia de complejos, inflamación vascular o hipertensión intraglomerular) o por función tubular alterada de las proteínas filtradas (por disfunción tubulointersticial) o ambos (Lees, 2004).

### *Clasificación de la proteinuria*

La proteinuria es decir, una cantidad anormal de proteínas en la orina puede ser de origen prerrenal, postrenal o renal. La **proteinuria de origen prerrenal** también se denomina por sobreproducción o sobrecarga y es causada por elevados niveles séricos de proteínas de bajo peso molecular que atraviesan libremente la membrana glomerular como la hemoglobina, mioglobina y las llamadas proteínas de Bence Jones o gamma globulinas producidas por células neoplásicas (Lees, 2004). En condiciones normales, estas proteínas atraviesan la membrana glomerular y son reabsorbidas activamente por las células tubulares proximales, pero cuando este transporte se satura, por una cantidad excesiva, aparecen en orina (Harley & Langston, 2012).

La **proteinuria postrenal** se debe a proteínas que son depositadas en la orina provenientes de cualquier sitio del tracto urinario distal al riñón (Harley & Langston, 2012). En general, estas proteínas pueden deberse a causas de las vías urinarias (proteinuria postrenal urinaria) como procesos que afectan las paredes de la vía excretora urinaria como pelvis renal, uréter, vejiga urinaria y uretra, o bien, a causas extrarrenales (proteinuria postrenal extraurinaria) por procesos hemorrágicos y/o exudativos que afectan el tracto genital y/o a los genitales externos durante la evacuación o en el proceso de recolección de orina para el análisis (Lees, 2004).

Finalmente, la **proteinuria renal** se debe a una alteración en los mecanismos fisiológicos que evitan la pérdida de proteínas por riñón, es decir, defectos en la filtración glomerular o en la reabsorción tubular (Harley & Langston, 2012). Esta proteinuria puede ocurrir, por un lado, de manera fisiológica en respuesta a ciertos fenómenos transitorios como el ejercicio vigoroso, fiebre, estrés, calor, convulsiones y, por otro lado, la proteinuria renal patológica atribuible a lesiones renales. Esta última, es con frecuencia la causa más común de proteinuria persistente y en la cual se observan mayores concentraciones de

proteínas en la orina (Grauer, 2011; Harley & Langston, 2012). Este proceso ocurre cuando existen lesiones estructurales o funcionales dentro de los riñones a nivel glomerular, tubular o intersticial. Dentro de las patologías que afectan la barrera de filtración glomerular, la glomerulonefritis y la amiloidosis son las causas más frecuentes en caninos y generalmente ocasionan pérdida de grandes cantidades (Harley & Langston, 2012). Por el contrario, cuando la lesión es a nivel tubular las proteínas que se pierden suelen ser de bajo peso molecular y pueden también incluir pequeñas cantidades de proteínas de peso molecular moderado (por ejemplo, albúmina) (Lees, 2004). En la Tabla 1 se resumen las causas y características de cada uno de estos procesos.

Tabla 1: Causas y procesos fisiopatológicos de la proteinuria.

<b>Causas de proteinuria</b>			
<b>Funcional</b>	<b>Patológica</b>		
		<b>Urinarias</b>	<b>Extraurinarias</b>
Ejercicio vigoroso	<b>Renales</b>	Lesiones glomerulares	Proteinuria de Bence Jones
Fiebre		Reabsorción tubular anormal	Hemoglobinuria
Estrés		Inflamación renal	Mioglobinuria
Calor		Neoplasia renal	Insuficiencia cardíaca congestiva
Convulsiones	<b>Extra renales</b>	Traumatismo o hemorragias	Inflamación de vías genitales
		Neoplasias	
		Cistitis Bacteriana	
		Urolitiasis	

Fuente: Adaptado de Lees y col., 2005.

### *Detección de la proteinuria*

Para determinar la proteína presente en la orina se puede recurrir a diferentes



métodos cualitativos, semicuantitativos y cuantitativos.

- Métodos cualitativos:

Son métodos muy sensibles en el diagnóstico precoz de proteinuria y proporcionan información sobre la localización de la alteración renal subyacente, es decir, en el glomérulo, en los túbulos o en ambos debido a que permiten la caracterización de las diferentes proteínas existentes en la orina (Harley & Langston, 2012).

Generalmente, el análisis proteico cualitativo se basa en dos herramientas fundamentales: las que separan proteínas de acuerdo con su carga eléctrica (uroproteinograma habitual) y aquellas que separan proteínas de acuerdo con su peso molecular. Estos últimos métodos utilizan Sodio Dodecilsulfato (SDS) como agente desnaturizante y separan las proteínas mediante electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), electroforesis en agarosa (SDS-AGE) y más recientemente electroforesis de alta resolución (de sus siglas en inglés HRE) (Giori y col., 2011).

- Métodos semicuantitativos:

El método de las tiras reactivas constituye la herramienta más utilizada en la clínica diaria para el *screening* inicial de proteinuria. La prueba se basa en un método colorimétrico mediante el cual un área impregnada con azul de tetrabromofenol reacciona con el grupo amino de la molécula de las proteínas y el indicador de pH vira de color verde claro a una gama de verdes más oscuros dependiendo de la concentración de proteínas presentes en la muestra. El límite inferior de detección es de 30 mg / dl y pueden observarse resultados falsos positivos en muestras contaminadas, con pH >8 o muy concentradas (Grauer, 2011).

- Métodos cuantitativos:

La determinación de la concentración de proteínas en orina recogida durante 24 horas constituye el método de referencia para la cuantificación de la proteinuria, sin embargo, resulta costoso y poco práctico. Por eso, en su lugar se determina el cociente proteína/creatinina urinaria (cociente PCU), obtenido a partir de dividir la concentración de la proteína y la de creatinina en orina. Este cociente es una herramienta sensible y fácil de realizar ya que requiere una muestra obtenida por cistocentesis (de elección), cateterización libre de contaminantes o por micción espontánea, descartando el principio y el final de la micción. El cociente PCU tiene en cuenta el hecho de que la excreción de creatinina permanece constante en presencia de una TFG estable. Por lo tanto, la proporción de estos dos metabolitos en una sola muestra reflejaría la excreción acumulada de proteínas a lo largo del día. Asimismo, se ha observado que existe una correlación entre los valores obtenidos del cociente PCU y el contenido de proteína en orina obtenida a partir de 24 horas de recolección en perros con pérdida de proteína normal. (Grauer, 2005).

De acuerdo con el consenso establecido por el *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) y los lineamientos de la *International Renal Interest Society* (IRIS) los pacientes con proteinuria se clasifican teniendo en cuenta el valor del cociente PCU como se muestra en la tabla 2.

Tabla 2: Clasificación de los pacientes de acuerdo con el valor del PCU según los lineamientos de ACVIM e IRIS.

Valor de PCU		Subestado
Caninos	Felinos	
<0.2	<0.2	No proteinúrico
0.2 a 0.5	0.2 a 0.4	Proteinuria borderline
>0.5	>0.4	Proteinúrico

### *Localización, monitoreo y cuantificación*

En aquellos pacientes que presentan pruebas positivas en las pruebas de *screening* para la proteinuria es esencial buscar la localización del proceso patológico como también poder caracterizar y cuantificar la proteína presente en la muestra. Es por tal motivo que se requiere información correspondiente a la anamnesis, examen clínico y resultados de las pruebas de laboratorio (Lees y col., 2005).

En primer lugar, para diferenciar el origen de la proteinuria deberían descartarse antecedentes de ejercicio intenso, convulsiones, fiebre, exposición al calor o frío extremo o estrés como causas de proteinuria renal benigna. Mientras que para localizar y caracterizar la proteinuria renal patológica (alteraciones o daño a nivel glomerular, tubular o intersticial), prerrenal (hemoglobinuria/ mioglobinuria/ proteína de Bence Jones) o postrenal (inflamación/ infección del tracto genital) se requiere la realización de pruebas de laboratorio complementarias siendo el urianálisis y la determinación del cociente PCU las recomendadas inicialmente.

### *Importancia de la detección de la proteinuria*

El objetivo de los nuevos enfoques diagnósticos y terapéuticos se basa en la detección precoz de anomalías para la instauración de medidas preventivas que eviten o disminuyan las consecuencias a futuro del daño a los tejidos.

En este contexto, el estudio realizado por Marynissen y col., (2016) demostró que el 19% de los pacientes caninos aparentemente sanos en los cuales se tomaron muestras de orina sucesivas presentó proteinuria persistente. Lo cual remarca la importancia de incluir la medición de la proteína urinaria como parte del *screening* de salud en pacientes geriátricos para instaurar una terapia preventiva que evite la progresión hacia la enfermedad renal.

## Hipótesis

---

La implementación en forma rutinaria de la determinación y caracterización de la proteinuria en caninos adultos y gerontes sin signos clínicos mejora la detección precoz de la disfunción renal.

## Objetivos

---

- Detectar la proteinuria en caninos adultos y gerontes sin signos clínicos aparentes de nefropatías, mediante la utilización de diferentes técnicas de laboratorio.
- Caracterizar los pacientes como proteinúrico, limítrofe o no proteinúrico mediante la determinación del cociente PCU.
- Evaluar la asociación entre las variables sexo y edad con la presencia de proteinuria.

## Materiales y métodos

---

### *Muestras*

En el trabajo se incluyeron muestras de orina de caninos domésticos, que asistieron por motivos de control de salud a una clínica veterinaria ubicada en Villa Devoto, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, en el período de noviembre 2018 a abril 2019.

Los criterios de inclusión fueron todas aquellas muestras provenientes de un paciente canino doméstico clínicamente sano para el cual el tutor o tenedor responsable autorizó la utilización de estas. La categoría “sano” fue determinada mediante ausencia

de anomalías en la exploración física, determinación de los valores hematológicos y bioquímicos de urea y creatinina dentro del rango de referencia y la ausencia de un sedimento activo en el análisis de orina. Por otro lado, los criterios de exclusión fueron todas aquellas muestras provenientes de un canino doméstico clínicamente enfermo o con valores hematológicos y bioquímicos alterados o presencia de un sedimento urinario activo o cuyo propietario no autorizó la utilización de las muestras. Finalmente, los criterios de eliminación fueron muestras provenientes de animales sin datos correctamente registrados, muestras mal conservadas o en insuficiente cantidad.

De cada una de las muestras incluidas en el estudio se recolectaron los datos referidos por el tutor, los cuales fueron ingresados en una base de datos en Microsoft Excel para su posterior análisis y se contemplaron las siguientes variables:

- Sexo (variable nominal): macho/hembra.
- Edad en años (variable cuantitativa continua). Los datos referidos a esta variable se categorizaron según fueran animales adultos (1 a 6 años) o gerontes ( $\geq 7$  años).

#### *Pruebas hematológicas, bioquímicas y análisis de orina para determinar el estado de salud*

##### *Materiales utilizados:*

Tubos con anticoagulante EDTA y tubos sin anticoagulante para la obtención de suero.

Jeringas estériles de 3 cc y agujas de 21/1

Recipientes estériles de poliestireno con tapa a rosca de cierre hermético, para la obtención de muestras de orina.

Capilares para microcentrifugación

Micropipeta automática fija 20  $\mu$ l y variable de 200

$\mu$ l

Portaobjetos

Cámara de Neubauer

*Reactivos:*

Tinción Giemsa (Biopack ®)

Metanol (Biopack ®)

UREA-BUN (Byosistems ®)

CREATININA (Byosistems ®)

PROTI U LCR (Wiener ®)

Tiras reactivas SIEMENES (Bayer ®)

*Equipamiento:*

Microcentrifuga (Rolco ®)

Macrocentrifuga (Arcano ®)

Baño térmico a 37°C

Espectrofotómetro A15 (Byosistems ®)

Microscopio (Olympus ®) CX21

Refractómetro

Las pruebas hematológicas fueron realizadas en forma manual. Para ello, se utilizó la muestra de sangre con EDTA. Utilizando la cámara de Neubauer, se realizó un recuento de glóbulos rojos y glóbulos blancos. Luego se realizó el hematocrito, para lo cual se cargaron las  $\frac{3}{4}$  partes de un microcapilar, el mismo fue sellado en uno de sus extremos, y por último fue colocado en una microcentrifuga durante 5 minutos a 12.000 rpm. Este posteriormente fue medido utilizando un ábaco, para obtener el valor expresado en porcentaje (%). Por último, se realizó un frotis sanguíneo el cual fue coloreado con la tinción de Metanol-Giemsa según las indicaciones del fabricante. Los extendidos sanguíneos fueron visualizados en el microscopio óptico a 1000X para obtener la fórmula leucocitaria relativa expresada en porcentaje (%), las características morfológicas de las células sanguíneas, así como la presencia o ausencia de microorganismos sanguíneos.

A partir de la muestra de sangre obtenida en un tubo sin anticoagulante, la misma fue colocada en un baño térmico a 37°C durante 10 minutos, una vez consolidado el coágulo se colocó en una centrifuga durante 10 minutos a 3.000rpm para la obtención de suero. En este, se realizaron la medición de la urea y creatinina utilizando el equipo Analizador Automático A15 y los reactivos UREA/BUN (mediante el método ureasa/salicilato) y CREATININA (mediante método Jaffé) (BioSystems, España) (Figura 1 y 2). Los resultados fueron expresados en mg/dL.

Para el análisis de orina, las muestras fueron recolectadas por micción espontánea debido a que es una técnica no invasiva a diferencia de la cistocentesis, que hubiera sido el método de elección, y además fue mejor aceptada por los tutores de los pacientes. Las muestras fueron colocadas en recipientes estériles de poliestireno con tapa a rosca de cierre hermético (DVS) y el procesamiento físico-químico y del sedimento urinario se realizó dentro de las 6 horas a partir de la toma de las mismas.



Figura 1: Autoanalizador A15 BioSystems

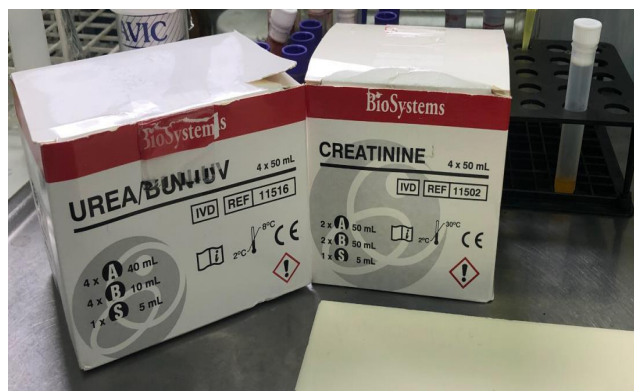


Figura 2: Reactivos de UREA y CREATININA utilizados.

En el examen físico de la orina se consignó:

- Aspecto: límpido, ligeramente turbio y turbio
- Color: normal: amarillo ámbar; anormal: otros colores
- Densidad: realizada por refractometría (Figura 3 y 4)

El examen químico se realizó mediante tiras reactivas (Multistix 10 SG SIEMENS, Laboratorio Bayer, Alemania) (Figura 3) determinando los siguientes parámetros:

- Proteínas
- pH
- Glucosa
- Cuerpos cetónicos
- Bilirrubina
- Sangre
- Urobilinógeno
- Leucocitos
- Nitritos



Figura 3: Refractómetro y tiras reactivas utilizadas.



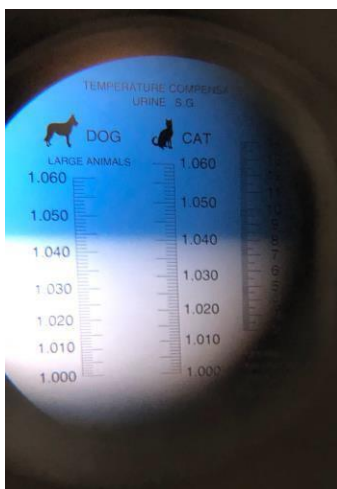


Figura 4: Medición de la densidad por refractometría.

Para la observación del sedimento urinario se colocaron 5 mL de orina en un tubo cónico y se centrifugaron durante 10 min a 2000 rpm. Una gota del sedimento fue colocada entre porta y cubreobjetos y se observó en un microscopio Olympus CX21 a 100X y 400X. Se registró la presencia de los diferentes elementos orgánicos e inorgánicos según la siguiente tabla 3.

Tabla 3: Planilla de trabajo utilizada para el registro de la observación del sedimento urinario

Células epiteliales	Eritrocitos	Leucocitos	Fibras de Mucus	Cristales	Cilindros	Bacterias
Escamosas    Transición    Renales						
Escasa: < 5 x campo	1 <5 x campo		Escasa	Escasa	Escasa	Ausencia
Regular: 5-10 x campo	2 < 5- x campo		Regular	Regular	Regular	Presencia
Abundante: >10 x campo	3 >10 x campo		Abundante	Abundante	Abundante	
Observaciones						

Fuente: Arauz y col., 2021.

Atlas de orina: Análisis de orina e interpretación de los resultados en caninos, felinos y equinos.

*Detección de proteínas en orina a través de la utilización de la técnica semicuantitativa de tiras reactivas y la técnica cuantitativa colorimétrica con Rojo de Pirogalol*

Para la detección de proteínas en orina se utilizó en primera instancia la prueba semicuantitativa de la tira reactiva: Multistix 10 SG (SIEMENS, Laboratorio Bayer, Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante y como fue mencionado en la sección anterior.

<https://drive.google.com/file/d/1Z77f1rQZNBLKugasJtkJKIDpheDp9Bae/view?usp=sharing>

Posteriormente se realizó con el sobrenadante del centrifugado de la muestra de orina, la detección mediante la técnica cuantitativa utilizando el método colorimétrico para la determinación de proteínas en orina ProtiU/LCR Wiener siguiendo las instrucciones del fabricante (Figura 5).

[https://drive.google.com/file/d/1qwaokh1Ax-UYPfk8pm47A6CYNqAjHdfs/view?usp=share\\_link](https://drive.google.com/file/d/1qwaokh1Ax-UYPfk8pm47A6CYNqAjHdfs/view?usp=share_link)

El mismo se basa en que las proteínas presentes en la muestra reaccionan en medio ácido con el complejo Rojo de Pirogalol-Molibdato originando un nuevo complejo coloreado que se cuantifica espectrofotométricamente a 600 nm.

Para obtener el cociente PCU, a partir de cada una de las muestras de orina se determinó la concentración de proteínas. Se tomaron 200  $\mu$ L del sobrenadante y se realizó la medición en el Analizador Automático A15 por espectrofotometría, obteniendo el resultado en gr/L.

La concentración de creatinina se estableció mediante el método de Jaffé para la determinación colorimétrica-cinética utilizando CREATININA (mediante método Jaffé) (BioSystems, España) y siguiendo las indicaciones del fabricante. Se realizó una dilución 1/50 del sobrenadante de las muestras de orina con agua destilada y se determinó la

concentración por espectrofotometría a 500 nm de longitud de onda.

La relación PCU se estableció mediante el cálculo matemático del valor de proteína urinaria en mg/dL sobre la creatinina urinaria en mg/dL.

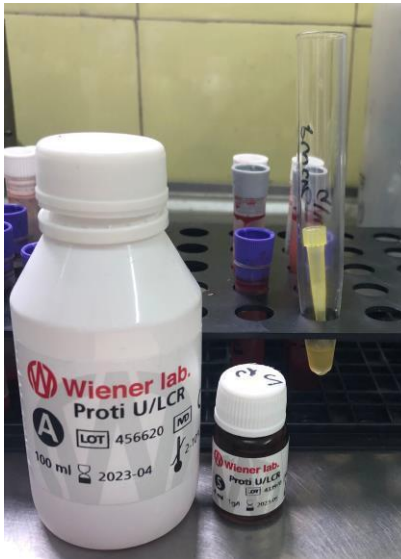


Figura 5: Reactivo para medición de proteína urinaria.

*Caracterización de las muestras como “proteinúricas”, “proteinuria limítrofe” o “no proteinúricas”*

Para la clasificación de las muestras se siguieron las recomendaciones del IRIS (<http://www.iris-kidney.com/education/proteinuria.html>), según las cuales los pacientes se dividen en tres grupos de acuerdo al resultado obtenido en el cociente PCU. De esta manera se describen tres categorías:

Proteinúrico:  $>0.5$

Proteinuria limítrofe:  $0.2-0.5$

No proteinúrico:  $<0.2$

### *Análisis estadístico*

Se realizó un análisis estadístico descriptivo mediante el cálculo de las frecuencias y porcentajes de las variables consideradas para la muestra. La asociación entre las variables fue evaluada mediante la prueba de Chi-Cuadrado o Fisher según correspondiera, con un  $p < 0,05$ . Todos los análisis se realizaron utilizando el software InfoStat/L 2020.

## **Resultados**

---

### *Descripción de las muestras*

En el periodo que comprendió el estudio, se recibieron 52 muestras de orina de caninos domésticos que asistieron por control de salud a la clínica veterinaria mencionada. Siete muestras fueron excluidas del estudio por presentar valores de urea y creatinina por encima del rango de referencia para la especie, según criterios de inclusión-exclusión pautados.

De las 45 muestras que cumplieron con los criterios de inclusión, 44,4% (20/45) correspondieron al sexo hembra y 55,5% (25/45) al sexo macho (Figura 6). Con respecto a la edad, estuvo comprendida por animales entre 1 y 19 años con un promedio de 9,7 años, siendo 15,6% (7/45) adultos y 84,4% (38/45) gerontes (Figura 7).

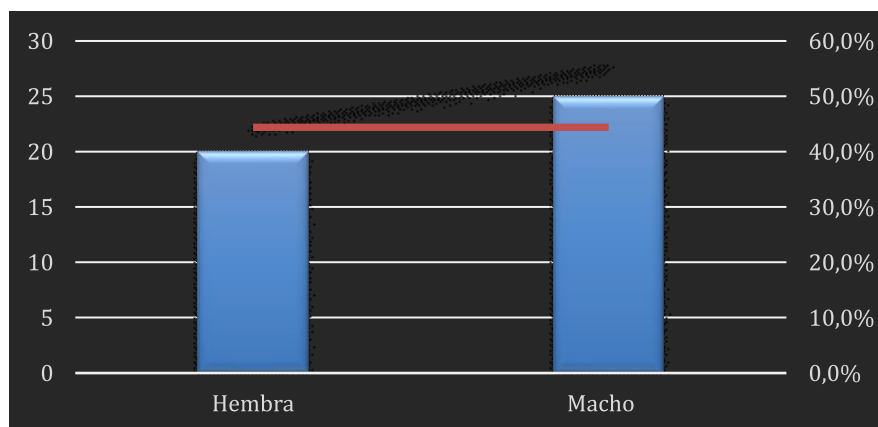


Figura 6: Descripción de la población de acuerdo con el sexo.

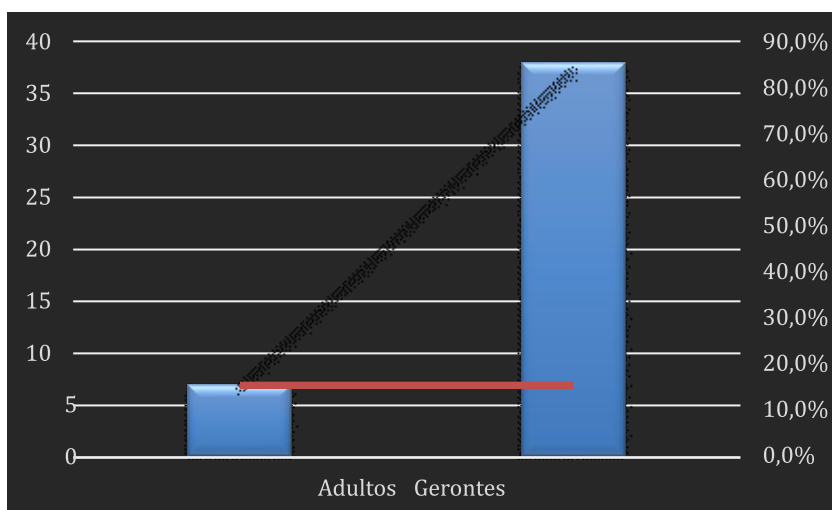


Figura 7: Descripción de la población de acuerdo con la edad.

*Detección de la proteína en orina a través de la utilización de la técnica semicuantitativa de tiras reactivas y la técnica cuantitativa colorimétrica con Rojo de Pirogalol*

De acuerdo con los resultados de la detección de proteínas en orina mediante la tira reactiva, se obtuvo que el 26,7% (12/45) de las muestras fueron negativas, el 46,7% (21/45) presentó trazas, el 17,8% (8/45) presentó valores positivos de 30 mg/dL y el 8,9% (4/45) presentó valores positivos con 100 mg/dL (Figura 8).

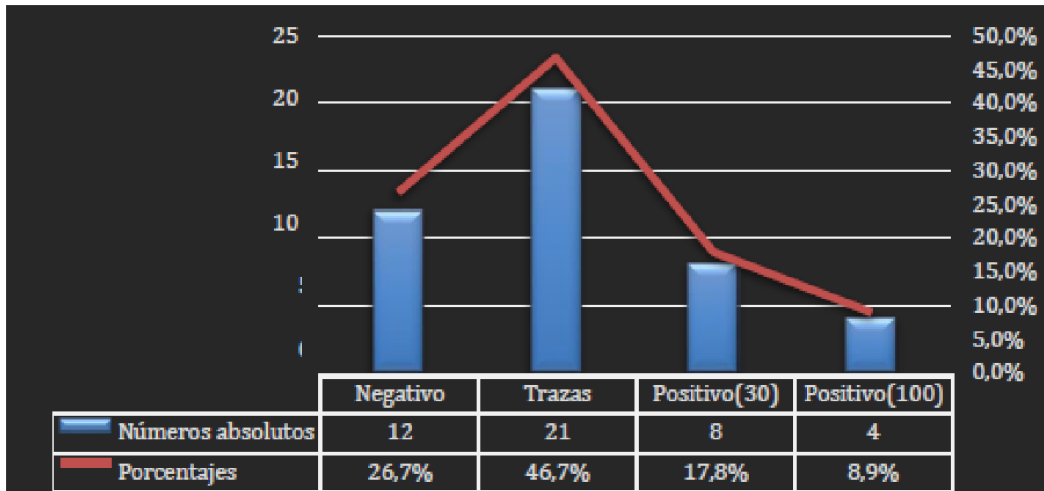


Figura 8: Caracterización según el resultado obtenido con las tiras reactivas.

Cuando la detección de proteínas se realizó mediante el método de rojo de pirogalol, se obtuvo que el 8,9% (4/45) presentó valores negativos, el 66,7% presentó valores entre 10-20 mg/dL de proteínas (30/45), el 17,8% (8/45) entre 30-100 mg/dL y el 6,7% (3/45) valores mayores a 100 mg/dL, siendo lo máximo detectado de 210 mg/dL (Figura 9).

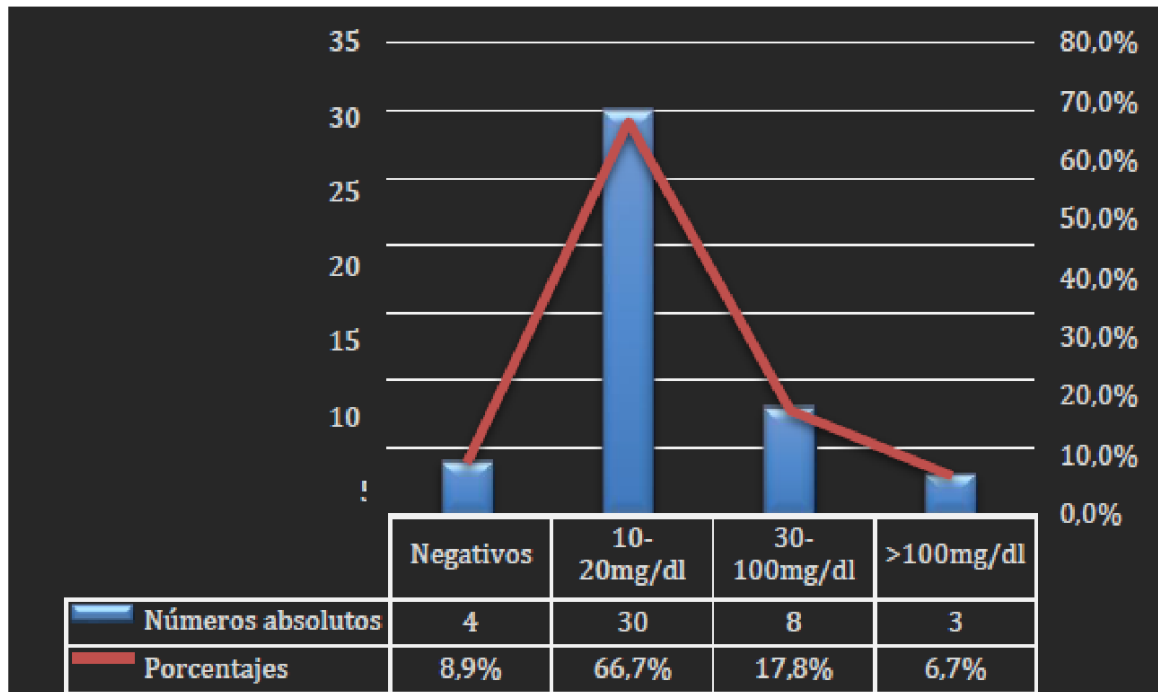


Figura 9: Caracterización según el resultado obtenido con Rojo de pirogalol.

De los 21 pacientes que presentaron trazas en la tira de orina, la determinación posterior de la relación PCU permitió determinar que 6 correspondían a la categoría de limítrofe y 15 de ellos no proteinúricos. Mientras que de los 12 pacientes que resultaron positivos con la tira de orina (con valores entre 30 y 100 mg/dL), 4 fueron no proteinúricos, 2 limítrofes y 6 proteinúricos mediante la relación PCU.

*Caracterización de las muestras como “proteinúrica”, “proteinuria limítrofe” o “no proteinúrica”*

Al realizar la caracterización de las muestras de acuerdo con el criterio del IRIS, se obtuvo que el 13,3% (6/45) fue “proteinúrica”, 20% (9/45) se categorizó como “proteinuria limítrofe” y 66,7 (30/45) como “no proteinúrica” (Figura 10).

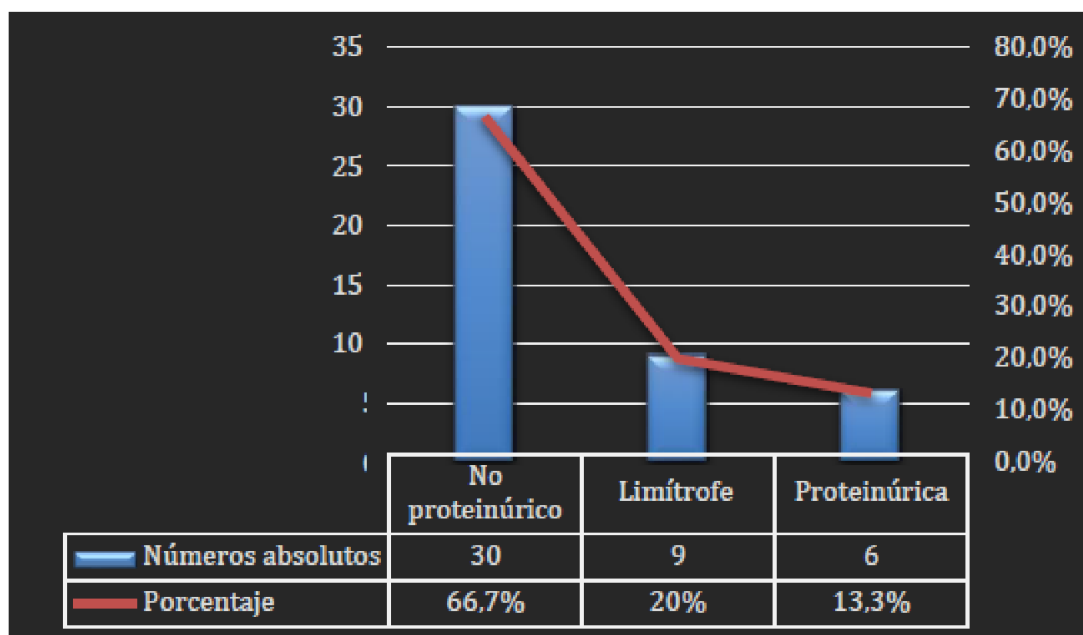


Figura 10: Caracterización según el IRIS.

### *Asociación entre las variables sexo y edad con la presencia de proteinuria*

Con respecto a la variable “edad”, se observó que todas las muestras caracterizadas como “proteinúrica” o “proteinuria limítrofe” correspondieron a animales gerontes. No obstante, la asociación entre proteinuria y categoría geronte no fue significativa ( $p > 0,05$ ). En cuanto al sexo, los machos presentaron mayor proporción que las hembras, en ambos grupos, pero la asociación no fue significativa ( $p > 0,05$ ).

## **Discusión y conclusiones**

---

La detección y cuantificación de la proteinuria mediante la determinación de la PCU constituye una estrategia útil para el diagnóstico temprano de enfermedad renal tanto en caninos como en felinos. Asimismo, la magnitud de la proteinuria se correlaciona con la tasa de progresión de la enfermedad renal y se ha asociado con el grado de mortalidad (Littman y col., 2013; Jacob y col., 2005).

En nuestro estudio el 13,3% de los pacientes estuvo incluido en la categoría de proteinúricos de acuerdo al resultado obtenido en el PCU, hallazgo coincidente con los resultados publicados por Marynissen y col., (2016) quienes mencionaron un 11% de pacientes proteinúricos pero menores a los mencionados por Yalcin & Cetin (2004) en caninos aparentemente sanos. Esta discrepancia posiblemente se deba a que los últimos autores tomaron un valor de PCU  $> 0,2$  para su comparación.

Por otro lado, resulta importante destacar que, si bien en nuestro estudio no se tomó a la categoría de proteinuria limítrofe como positivos, el hallazgo de un 20% de pacientes que la presentaron coincide con el 16% descrito por Marynissen y col., (2016) y justifica una mayor vigilancia y seguimiento de los mismos para determinar la posible evolución hacia proteinuria o bien proteinuria persistente debido a que este último hallazgo



asociado con un sedimento de orina inactivo constituye un sello clinicopatológico distintivo de la enfermedad renal crónica en caninos (Grauer, 2005). En este contexto algunos autores mencionan una monitorización más estrecha con metabolitos como la dimetilarginina simétrica (del inglés: Symmetric dimethylated arginine SDMA) además de la medición de creatinina y de la relación PCU debido a que puede facilitar el diagnóstico precoz de la ERC en caninos (Yerramilli y col., 2016).

En relación con los métodos disponibles para evaluar si los caninos son proteinúricos, la medición de la relación PCU es una de las más utilizadas para cuantificar y monitorear la proteinuria en medicina veterinaria. En la práctica, la tira reactiva se utiliza como una medida semicuantitativa de proteína urinaria y proporciona una prueba económica, sencilla y rápida que permite una aproximación inicial del paciente con sospecha de proteinuria. No obstante, se pueden obtener resultados falsos positivos en orinas muy concentradas o con pH altamente alcalino (pH 7,5) por lo cual todas las reacciones positivas, independientemente de la gravedad específica de la orina, deben corroborarse con otro método diagnóstico (Lees y col., 2005). En nuestro trabajo la utilización de la relación PCU permitió caracterizar como no proteinúricos a 15 de 21 pacientes que habían dado trazas con la tira mientras que de los 12 pacientes que resultaron positivos con la tira de orina (con valores entre 30 y 100 mg/dL), 4 fueron no proteinúricos.

Con respecto a la variable edad, en un estudio llevado a cabo por Willems y col., (2017), la proteinuria no fue significativamente mayor en caninos gerontes en comparación con caninos adultos mayores, en contraste con un estudio similar realizado en felinos (Paepe y col., 2013). En nuestro trabajo si bien se observó mayor proporción de muestras proteinúricas en pacientes gerontes y del sexo macho, debido al reducido tamaño de muestras no es posible determinar la validez de la asociación o no, entre estas variables y la proteinuria.

En conclusión, el 13,3% y el 20% de los pacientes aparentemente sanos presentaron proteinuria positiva y límite respectivamente. Estos hallazgos enfatizan que la medición de la proteinuria y posterior caracterización del paciente según la relación PCU debe ser parte de los análisis de salud de rutina en pacientes caninos gerentes. Futuros estudios con mayor tamaño muestral y que incluyan estudios complementarios como separación electroforética, biopsias renales y seguimiento de los pacientes son necesarios para evaluar más en detalle la evolución de estos pacientes hacia una proteinuria persistente, su origen y el desarrollo de una insuficiencia renal crónica.

## Bibliografía

---

- Arauz, M.,S., Fontana, L., L., L., Martin, P., L. Atlas de orina Análisis de orina e interpretación de los resultados en caninos, felinos y equinos. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). Primera edición. 2021. <https://doi.org/10.35537/10915/129690>
- De Loor, J., Daminet, S., Smets, P., Maddens, B., & Meyer, E. (2013). Urinary biomarkers for acute kidney injury in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 27(5), 998–1010. <https://doi.org/10.1111/jvim.12155>
- Garcia Sacristan Albino. Fisiología Veterinaria. Ed. Interamericana McGraw-Hill 1<sup>ra</sup> Edición. 1996.
- Giori, L., Tricomi, F. M., Zatelli, A., Roura, X., & Paltrinieri, S. (2011). High-resolution gel electrophoresis and sodium dodecyl sulphate-agarose gel electrophoresis on urine samples for qualitative analysis of proteinuria in dogs. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of*

*Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 23(4), 682–690.  
<https://doi.org/10.1177/1040638711407900>

- Grauer G. F. (2005). Early detection of renal damage and disease in dogs and cats. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 35(3), 581–596.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.12.013>
- Grauer G. F.(2011). Proteinuria: measurement and interpretation. *Topics in companion animal medicine*, 26(3), 121–127.  
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.04.002>
- Hall, J. E. *Guyton y Hall Tratado de fisiología médica* . 13ª ed.,Editorial Elsevier, 2016.
- Harley, L., & Langston, C. (2012). Proteinuria in dogs and cats. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 53(6), 631–638.
- Jacob, F., Polzin, D. J., Osborne, C. A., Neaton, J. D., Kirk, C. A., Allen, T. A., & Swanson, L. L. (2005). Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(3), 393–400.  
<https://doi.org/10.2460/javma.2005.226.393>
- Lees, G. E., Brown, S. A., Elliott, J., Grauer, G. E., Vaden, S. L., & American College of Veterinary Internal Medicine (2005). Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM Forum Consensus Statement (small animal). *Journal of veterinary internal medicine*, 19(3), 377–385.  
[https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2005\)19\[377:aamopi\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2005)19[377:aamopi]2.0.co;2)
- Lees G. E. (2004). Early diagnosis of renal disease and renal failure. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 34(4), 867–v.  
<https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2004.03.004>

- Littman, M. P., Daminet, S., Grauer, G. F., Lees, G. E., & van Dongen, A. M. (2013). Consensus recommendations for the diagnostic investigation of dogs with suspected glomerular disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 27 Suppl 1, S19–S26. <https://doi.org/10.1111/jvim.12223>
- Marynissen, S. J., Willems, A. L., Paepe, D., Smets, P. M., Picavet, P., Duchateau, L., & Daminet, S. (2016). Proteinuria in Apparently Healthy Elderly Dogs: Persistency and Comparison Between Free Catch and Cystocentesis Urine. *Journal of veterinary internal medicine*, 31(1), 93–101. <https://doi.org/10.1111/jvim.14635>
- Nabity M. B. (2018). Traditional Renal Biomarkers and New Approaches to Diagnostics. *Toxicologic pathology*, 46(8), 999–1001. <https://doi.org/10.1177/0192623318800709>
- Nelson, R., y Couto, G. Medicina interna de pequeños animales. 3ra Edición, Vol 2, Ed.. Inter- Médica. Buenos Aires, República Argentina. 2005.
- Paepe, D., Verjans, G., Duchateau, L., Piron, K., Ghys, L., & Daminet, S. (2013). Routine health screening: findings in apparently healthy middle-aged and old cats. *Journal of feline medicine and surgery*, 15(1), 8–19. <https://doi.org/10.1177/1098612X12464628>
- Smets, P. M., Meyer, E., Maddens, B. E., Duchateau, L., & Daminet, S. (2010). Urinary markers in healthy young and aged dogs and dogs with chronic kidney disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 24(1), 65–72. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0426.x>
- Willems, A., Paepe, D., Marynissen, S., Smets, P., Van de Maele, I., Picavet, P., Duchateau, L., & Daminet, S. (2017). Results of Screening of Apparently Healthy Senior and Geriatric Dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 31(1), 81–92. <https://doi.org/10.1111/jvim.14587>

- Yalcin, A. & Çetin, M. (2004). Electrophoretic separation of urine proteins of healthy dogs and dogs with nephropathy and detection of some urine proteins of dogs using immunoblotting. *Revue de Medecine Veterinaire*. 155. 104-112.
- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J., & Yerramilli, M. (2016). Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury: The Role of Novel Biomarkers as Early and Accurate Diagnostics. *The Veterinary clinics of North America Small animal practice*, 46(6), 961–993. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016>