

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Tese

**Dioctofimose na região Sul do Rio Grande do Sul: ocorrência, diagnóstico e
atividade ovicida de extratos vegetais de *Solanum lycocarpum***

Soliane Carra Perera

Pelotas, 2020

Soliane Carra Perera

**Diocetofimose na região Sul do Rio Grande do Sul: ocorrência, diagnóstico e
atividade ovicida de extratos vegetais de *Solanum lycocarpum***

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientadora: Marlete Brum Cleff

Pelotas, 2020

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

P434d Perera, Soliane Carra

Diocetofimose na região Sul do Rio Grande do Sul [recurso eletrônico]
: ocorrência, diagnóstico e atividade ovicida de extratos vegetais de
Solanum lycocarpum / Soliane Carra Perera ; Marlete Brum Cleff,
orientador. — Pelotas, 2020.
108 f.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária,
Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2020.

1. *Diocetophyme renale*. 2. Cães e gatos. 3. Zoonose. 4. Lobeira. 5.
Extratos aquosos. I. Cleff, Marlete Brum, orient. II. Título.

CDD 636.70896959

Soliane Carra Perera

Dioctofimose na região Sul do Rio Grande do Sul: ocorrência, diagnóstico e atividade ovicida de extratos vegetais de *Solanum lycocarpum*

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 27/02/2020

Banca examinadora:

Prof.^a Dr.^a Marlete Brum Cleff (Orientadora)
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof.^a Dr.^a Maria Elisabeth Aires Berne
Doutora em Parasitologia pela Universidade Federal de Minas Gerais

Prof. Dr. Rogério Antonio Freitag
Doutor em Química pela Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Marcos Marreiro Villela
Doutor em Ciências da Saúde pela Fundação Oswaldo Cruz

Agradecimentos

Agradeço primeiramente aos meus pais e ao meu irmão que sempre estiveram ao meu lado me apoiando nessa trajetória. Se eu estou concluindo um doutorado hoje, com certeza é porque a minha família sempre esteve junto comigo.

Agradeço a minha orientadora, a professora Marlete. Também sempre esteve disposta a ajudar da maneira que fosse, atenciosa comigo e com todas as gurias do grupo, não só no âmbito acadêmico, mas no pessoal também. Agradeço por encarar as barras pesadas e por sempre acreditar tanto em mim.

Agradeço a minha coorientadora, a professora Josaine, com quem eu dei o primeiro passo no mundo da pesquisa envolvendo *Dioctophyme renale*. Tudo começou ali, com certeza, inclusive a “paixão” por esse parasito.

Agradeço aos grupos Fitopeet e Prodic pela oportunidade de trabalhar junto com muita gente boa, que se importa não só pela pesquisa, mas também com os animais, buscando o melhor para os pacientes. Esse é o verdadeiro sentido do que fazemos. Deixo meu agradecimento especial a Gabi, a Cris, a Rosaria e a Pâmela pela parceria e amizade, e a Duda que contribuiu muito com o desenvolvimento desse trabalho.

Agradeço à turma da parasito, em especial a Carol, a Antonieta e a Elza, por serem exemplos de seres humanos e por me ensinarem tanto.

Agradeço aos animais com quem convivi e que permitiram a realização dessas pesquisas. Todos maravilhosos, sem exceção.

Agradeço aos meus amigos eternos (Charles, Vanessa, Fabi, Cris, Aline, Karen, Marina) por serem tão presentes mesmo à distância.

Agradeço à UFPel que me acolheu e foi minha “casa” por tantos anos e me ofereceu tantas oportunidades.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento COCEPE 8108. Portanto, agradeço à CAPES pela contribuição com

a minha bolsa de estudos durante metade do período de estudos do doutorado. Agradeço também às demais agências de fomento à pesquisa (CNPQ e FAPERGS) que contribuíram direta e indiretamente para o desenvolvimento dos projetos de pesquisa científica.

Por fim, agradeço a Deus por todas as oportunidades e pessoas queridas que colocou no meu caminho. Muito obrigada!

Resumo

PERERA, Soliane Carra. **Diocetofimose na região Sul do Rio Grande do Sul: ocorrência, diagnóstico e atividade ovicida de extratos vegetais de *Solanum lycocarpum***. 2020. 108f. Tese (Doutorado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Diocetophyme renale é um nematódeo de distribuição mundial e com potencial zoonótico, sendo capaz de parasitar o rim de mamíferos domésticos e silvestres, destacando-se os cães. Uma vez que o tratamento da diocetofimose é feito por nefrectomia, o uso de extratos vegetais com potencial ovicida, como *Solanum lycocarpum*, podem contribuir para o controle da enfermidade. Portanto, este estudo teve como objetivos verificar os casos de diocetofimose em cães e gatos do extremo Sul do Rio Grande do Sul (RS), a eliminação de ovos do helminto pela urina de cães parasitados após nefrectomia, assim como a atividade ovicida e a citotoxicidade dos extratos aquosos de *S. lycocarpum* em ovos de *D. renale*. Foram analisados dados de cães e gatos com a doença diagnosticados em centros veterinários, bem como as amostras de urina um dia antes e 10 dias após a nefrectomia de 15 cães com diocetofimose por meio da técnica de centrifugo-sedimentação. Ainda, dois extratos aquosos (EA1 e EA2) foram testados *in vitro* em ovos de *D. renale* (0,31 a 10 mg.mL⁻¹), bem como a citotoxicidade foi averiguada em células de rim bovino (0,31 a 40 mg.mL⁻¹). Verificou-se 240 casos de diocetofimose em cães e nove em gatos, sendo a maioria dos animais sem raça definida, fêmeas, adultos jovens e com sinal de hematuria. Ainda, o ultrassom foi o método de diagnóstico mais utilizado, assim como o rim direito o órgão mais acometido. A maioria dos animais tinha histórico de acesso à rua, sendo provenientes de Pelotas, Capão do Leão e Morro Redondo. Nas análises de urina, 93,33% dos cães eliminaram ovos de *D. renale* após a nefrectomia, sendo que três deles até o dia 10. Os extratos aquosos de *S. lycocarpum* inibiram o embrionamento de ovos de *D. renale* acima de 99% a partir do tratamento 0,62 mg.mL⁻¹ (EA1) e 1,25 mg.mL⁻¹ (EA2). Os extratos aquosos não foram citotóxicos nas concentrações de 0,31 a 10 mg.mL⁻¹ no extrato EA1 e nas concentrações de 0,31 a 20 mg.mL⁻¹ no extrato EA2. Portanto, conclui-se que a região Sul do RS apresenta a maior casuística mundial de diocetofimose em cães e gatos, destacando-se o município de Pelotas. Além disso, cães com diocetofimose podem eliminar ovos do helminto pela urina por 10 dias após a remoção dos parasitos, e os extratos de *S. lycocarpum* apresentam potencial ovicida em ovos de *D. renale*, sendo promissores para controle ambiental do helminto.

Palavras-chave: *Diocetophyme renale*; cães e gatos; zoonose; lobeira; extratos aquosos.

Abstract

PERERA, Soliane Carra. **Diectophymosis in the southern region of Rio Grande do Sul: occurrence, diagnosis and ovicidal activity of plant extracts from *Solanum lycocarpum***. 2020. 108f. Thesis (Doctor degree in Sciences) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2020.

Diectophyme renale is a nematode with worldwide distribution and zoonotic potential, capable of parasitizing the kidneys of domestic and wild mammals, especially dogs. Since diectophymosis is treated by nephrectomy, the use of plant extracts with ovicidal potential, such as *Solanum lycocarpum*, may contribute to controlling the disease. Therefore, this study aimed to verify the cases of diectophymosis in dogs and cats in the extreme south of Rio Grande do Sul (RS), the elimination of helminth eggs in the urine of parasitized dogs after nephrectomy, as well as the ovicidal activity and cytotoxicity of aqueous extracts of *S. lycocarpum* on *D. renale* eggs. Data from dogs and cats diagnosed with the disease in veterinary centers were analyzed, as well as urine samples one day before and 10 days after nephrectomy of 15 dogs with diectophymosis using the centrifugal sedimentation technique. Furthermore, two aqueous extracts (EA1 and EA2) were tested *in vitro* on *D. renale* eggs (0.31 to 10 mg.mL⁻¹), and cytotoxicity was assessed on bovine kidney cells (0.31 to 40 mg.mL⁻¹). There were 240 cases of diectophymosis in dogs and nine in cats, most of which were mixed breed, female, young adults and had signs of hematuria. Furthermore, ultrasound was the most commonly used diagnostic method, and the right kidney was the most affected organ. Most of the animals had a history of outdoor use and were from Pelotas, Capão do Leão and Morro Redondo. In urine analysis, 93.33% of dogs eliminated *D. renale* eggs after nephrectomy, three of them up to day 10. The aqueous extracts of *S. lycocarpum* inhibited the embryonation of *D. renale* eggs by more than 99% after treatment with 0.62 mg.mL⁻¹ (EA1) and 1.25 mg.mL⁻¹ (EA2). The aqueous extracts were not cytotoxic at concentrations of 0.31 to 10 mg.mL⁻¹ in extract EA1 and at concentrations of 0.31 to 20 mg.mL⁻¹ in extract EA2. Therefore, it is concluded that the southern region of RS has the largest case series of diectophymosis in dogs and cats in the world, with the municipality of Pelotas standing out. Furthermore, dogs with diectophymosis can eliminate helminth eggs in their urine for 10 days after removal of the parasites, and extracts of *S. lycocarpum* have ovicidal potential in *D. renale* eggs, being promising for environmental control of the helminth.

Keywords: *Diectophyme renale*; dogs and cats; zoonosis; lobeira; aqueous extracts.

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Gráfico demonstrativo do número de casos de dioctofimose em cães diagnosticados em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinários e HCV-UFPeL de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2019..... 24
- Figura 2 Representação das taxas de idade dos cães (n=136) no momento em que foram diagnosticados com *D. renale* em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPeL de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020..... 27

Artigo 3

- Figura 1 Mean number of *Dioctophyme renale* eggs eliminated in dog urine in the preoperative period (POP) to the tenth postoperative day (POD 10) after the removal of helminths by nephrectomy..... 67

Lista de Tabelas

Artigo 1

Tabela 1	Relação em ordem decrescente das raças de cães diagnosticados com dirofilariose em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPEL de Pelotas Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.....	26
Tabela 2	Métodos diagnósticos em ordem decrescente de cães com dirofilariose em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPEL de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.....	28
Tabela 3	Sítios de infecção por <i>D. renale</i> em cães diagnosticados em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPEL de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.....	31
Tabela 4	Cidades de moradia e procedência dos cães diagnosticados com <i>D. renale</i> em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPEL de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.....	34
Tabela 5	Relação no número de casos de dirofilariose de acordo com a condição de vida anterior e atual dos animais (n=68) que foram diagnosticados nas clínicas veterinárias e em um centro de diagnóstico por imagem veterinário de Pelotas, RS, entre 2006 e 2019.....	35

Artigo 3

Tabela 1	Quantification of female and male specimens of <i>Dioctophyme renale</i> observed in the right kidney and at other sites of infection in dogs with dioctophymosis, and total number of eggs observed in the urine of dogs parasitized by <i>Dioctophyme renale</i> in the preoperative period (POP) to the tenth postoperative day (POD 10) after the removal of helminths by nephrectomy.....	65
----------	--	----

Artigo 4

Tabela 1	Médias das taxas de inibição de embrionamento dos ovos de <i>D. renale</i> no 28º dia de tratamento com os extratos aquosos EA1 e EA2 de <i>S. lycocarpum</i> e o controle positivo de tiabendazol (0,025 mg.mL ⁻¹).....	80
Tabela 2	Médias das taxas de viabilidade celular em células MBDK após 24 horas de tratamento com extratos aquosos EA1 e EA2 de <i>Solanum lycocarpum</i> , e controle positivo de tiabendazol (0,025 mg.mL ⁻¹).....	81

Sumário

1 Introdução.....	11
2 Objetivos.....	18
2.1 Objetivo geral.....	18
2.2 Objetivos específicos.....	18
3 Artigos.....	19
3.1 Artigo 1.....	19
3.2 Artigo 2.....	46
3.3 Artigo 3.....	58
3.4 Artigo 4.....	72
4 Considerações Finais.....	91
Referências.....	93
Anexos.....	105

1 Introdução

Diectophyme renale (Goeze, 1782) é um nematódeo cosmopolita, popularmente conhecido como o “verme gigante do rim” por ser considerado um dos maiores parasitos do Filo Nematoda e ter o rim como órgão de eleição (PERERA et al., 2021). A enfermidade decorrente do parasitismo é denominada dioctofimose ou dioctofimatoze, podendo afetar animais domésticos, silvestres e humanos, caracterizando-se assim como uma zoonose (EIRAS et al., 2021; PERERA et al., 2021).

Na fase adulta, os espécimes do nematódeo apresentam coloração vermelho-sangue e diferenciação sexual. Os machos são caracterizados por medirem entre 15 e 45 cm de comprimento e 0,3 a 0,4 cm de largura, e por apresentarem uma bolsa muscular em formato de campânula na extremidade posterior do corpo. As fêmeas apresentam-se maiores, podendo medir de 20 a 100 cm de comprimento e 0,5 a 1,2 cm de largura, com cauda obtusa e vulva presente entre 5 e 7 cm da extremidade anterior do corpo (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015).

Os ovos de *D. renale* caracterizam-se por serem de coloração castanho-amarelada, formato elíptico, com uma casca espessa, rugosa e com tampões bipolares (PERERA et al., 2017a). Os ovos medem aproximadamente 67,23 µm de comprimento e 42,78 µm de largura, e apresentam uma a duas células no seu interior quando eliminados na urina (PEDRASSANI et al., 2009a).

O ciclo do parasito é indireto devido à necessidade de um hospedeiro intermediário (HI), o anelídeo oligoqueto aquático *Lumbriculus variegatus*. O HI ingere os ovos embrionados de *D. renale*, possibilitando a evolução da larva para a forma infectante (L3). Ainda, podem participar do ciclo os hospedeiros paratênicos (HP), como peixes e anuros, os quais albergam a L3 após ingerirem os anelídeos infectados. Da mesma forma, a transmissão para animais e pessoas ocorre a partir da ingestão de HI e HP parasitados com L3 (MACE & ANDERSON, 1975; MEASURES, 2001).

Como forma de controle da dioctofimose, sugere-se que seja evitado o consumo de peixes, rãs e sapos crus ou insuficientemente cozidos, especialmente em áreas que há ocorrência da doença (SILVEIRA et al., 2015). Porém, em se tratando de animais com acesso à rua, essas medidas tornam-se pouco efetivas uma vez que os mesmos apresentam hábitos alimentares não seletivos, podendo ingerir água e HP contaminados com a larva infectante de *D. renale* (KOMMERS et al., 1999; MASCARENHAS et al., 2016; RAPPETI et al., 2017). Com o intuito de ajudar na detecção precoce da enfermidade, indica-se também a realização de urinálises periódicas e exames ultrassonográficos preventivos em animais de regiões sabidamente endêmicas para a parasitose (SAPIN et al., 2017a). Além disso, salienta-se que pessoas que se encontram em vulnerabilidade social estão mais susceptíveis a consumir acidentalmente HI, podendo se tornar infectadas, além de contribuírem para a persistência do parasito alimentando os animais com HP crus (GIORELLO et al., 2017).

Em Pelotas, Rio Grande do Sul (RS), têm sido relatados muitos casos de dioctofimose em cães e gatos (PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017; SILVA et al., 2017; CAYE et al., 2024). Entre eles, RAPPETI et al. (2017) relataram a ocorrência de infecção por *D. renale* em 95 animais entre 1981 e 2015, sendo que 81 destes casos foram diagnosticados a partir de 2010. Os dados foram obtidos a partir de necropsias realizadas no Laboratório de Patologia Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e exames de ultrassom no setor de imagem do Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da UFPel e uma clínica particular de diagnóstico por imagem veterinária. Entre os casos avaliados, observou-se que três acometeram felinos e 92 caninos, havendo uma maior ocorrência da parasitose em cães. Além disso, em um estudo realizado por PERERA et al. (2017a), observou-se a presença de ovos de *D. renale* em 3% das amostras de solo de um local onde já haviam sido previamente diagnosticados cães com dioctofimose, e em 18,6% (n=43) das amostras de urina de cães e gatos provenientes de Pelotas, incluindo a amostra de urina de um felino.

Além disso, há também relatos da presença de *D. renale* em locais incomuns, como na musculatura retoabdominal (CAYE et al., 2015), no escroto (DIAS et al., 2017) e na uretra (STAINKI et al., 2011), assim como de eliminação de parasitos pela urina e presença do helminto no rim esquerdo do mesmo animal (PERERA et al., 2017b). Ainda, foi realizada análise histopatológica de rins parasitados com *D. renale*

removidos cirurgicamente no HCV-UFPeL, sendo observadas lesões de atrofia acentuada e ausência de parênquima renal (SAPIN et al., 2017a). Ademais, os autores observaram que as alterações presentes nos rins analisados sugeriam grau avançado de lesões e, portanto, cronicidade das mesmas devido ao diagnóstico tardio da parasitose, uma vez que a procura pela consulta ao médico veterinário muitas vezes não está diretamente relacionada à enfermidade (SAPIN et al., 2017a).

Estudos recentes em Pelotas e no Capão do Leão vem avaliando a presença de larvas infectantes (L3) em possíveis HP nesses dois municípios. MASCARENHAS e MÜLLER (2014) avaliaram tartarugas da espécie *Trachemys dorbigni* provenientes de zona rural no Capão do Leão e da zona urbana de Pelotas. No total, foi observada a prevalência de 50% das tartarugas infectadas com a L3, sendo esta ainda maior nas tartarugas da zona urbana (87,5%) em comparação com as da zona rural (7,1%). Ademais, MASCARENHAS e colaboradores (2016) verificaram a presença de L3 em quatro peixes da espécie *Hoplosternum littorale* provenientes de canais da zona urbana de Pelotas. Portanto, acredita-se que o município de Pelotas apresente ambiente e condições favoráveis para o desenvolvimento e manutenção da dioctofimose, com presença de hospedeiros definitivos (HD) e possíveis HP do nematódeo (RAPPETI et al., 2017), o que torna um importante alerta de saúde pública, uma vez que a enfermidade é caracterizada como uma zoonose (PERERA et al., 2017a).

Embora *D. renale* tenha o rim direito como órgão de eleição, há diversos relatos da presença do helminto realizando ciclo errático, como na cavidade abdominal, sendo frequente o parasitismo nesse local em cães e gatos (MONTEIRO et al., 2002; PEDRASSANI et al., 2014). Ademais, também há relatos da presença do parasito em outras áreas anatômicas, como no tecido subcutâneo (SILVEIRA et al., 2015), cavidade torácica (MEYER et al., 2013), tumor de mamário (FIGUEIREDO et al., 2013), escroto (DIAS et al., 2017), musculatura retoabdominal (CAYE et al., 2015), espaço extradural da coluna vertebral (BACH et al., 2016), rim esquerdo (BRUNNER et al., 2022), entre outros.

O helminto apresenta glândulas esofágicas que liberam enzimas proteolíticas e lipolíticas responsáveis por causar lesões nos órgãos e locais parasitados (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015). Quando presente no rim, o nematódeo se nutre através da ingestão do parênquima renal e do sangue, restando apenas a cápsula do órgão com os helmintos no seu interior, líquido serosanguinolento, e ovos

quando houver exemplar fêmea do nematódeo (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015; SILVEIRA et al., 2015). A fim de compensar a perda de função do rim parasitado, ocorre hipertrofia do rim contralateral (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015). Também podem ser observadas lesões macroscópicas esbranquiçadas, irregulares e firmes na cápsula renal, classificadas histologicamente como metaplasia óssea quando há cronicidade da infecção e consequente tentativa do tecido conjuntivo em se adaptar (SAPIN et al., 2017a).

Nos casos em que ocorre parasitismo na cavidade abdominal, observa-se ocorrência de peritonite pela presença dos parasitos e pelas lesões causadas por estes, principalmente quando houver espécime fêmea devido à liberação de ovos, o que agrava a inflamação. Além disso, há relatos de alteração do aspecto do omento, tornando-se avermelhado, e também espessamento do peritônio com micronodulações (PERERA et al., 2017b; 2021), podendo haver presença de exsudato seroso de coloração amarelada e filamentos de fibrina (SILVEIRA et al., 2015).

Com relação à sintomatologia, é comum os pacientes se apresentarem assintomáticos, ou então com sinais clínicos inespecíficos, dificultando a suspeita da parasitose (PERERA et al., 2021). Nos animais, há relatos da ocorrência de hematúria, disúria, estrangúria, emagrecimento progressivo, apatia, tristeza, arqueamento dorsal, volume palpável da região renal e andar vacilante (KOMMERS et al., 1999; ALVES et al., 2007; STAINKI et al., 2011). A enfermidade pode se apresentar de forma subclínica até que as lesões no rim parasitado atinjam um grau irreversível, ou ainda quando o rim contralateral não for mais capaz de suprir as funções do sistema urinário, levando frequentemente a um diagnóstico tardio (SAPIN et al., 2017a).

O diagnóstico da helmintose, é obtido através de exames de ultrassom e urina, por achados cirúrgicos e de necropsia dos animais, assim como pela eliminação dos parasitos pela urina (CHAUHAN et al., 2016; REGALIN et al., 2016; PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017; BRUNNER et al., 2022). Entre os exames de imagem, podem ser realizadas a radiografia e a ultrassonografia, sendo esta última mais comum. No exame de ultrassom, são observadas estruturas com paredes hiperecoicas e conteúdo hipoeicoico, localizadas tanto no rim quanto em locais ectópicos, como em outros órgãos e na cavidade abdominal, por exemplo (SILVEIRA et al., 2015). No exame de urina, é possível observar a presença de ovos do

nematódeo no sedimento urinário, confirmando o diagnóstico da doença (PERERA et al., 2017a). Entretanto, podem ocorrer resultados falso-negativos neste exame nos casos em que os animais não excretam ovos de *D. renale* por estarem sendo infectados apenas por machos, por formas ainda imaturas, ou pelo fato de o parasito não estar no rim (PEDRASSANI et al., 2015). No entanto, nesses casos, ainda ocorre o desenvolvimento de imunidade por parte do animal parasitado, sendo possível detectar através de um teste sorológico de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), o qual tem se revelado eficaz para detecção de cães infectados por *D. renale* (PEDRASSANI et al., 2015; CAPELLA et al., 2024).

Em muitos animais, o diagnóstico da dioctofimose é feito por meio de achados cirúrgicos de pacientes hígidos durante cirurgias eletivas (MILECH et al., 2012; REGALIN et al., 2016), ou até mesmo por achados de necropsia de animais que foram a óbito por outra causa, incluindo aqueles encontrados atropelados em vias públicas (PESENTI et al., 2012; SILVEIRA et al., 2015). Embora seja menos frequente, há também relatos de diagnóstico da parasitose a partir da eliminação do verme pela urina dos animais e humanos acometidos por *D. renale* (LI et al., 2010; VENKATRAJIAH et al., 2014; PERERA et al., 2017b).

O tratamento da dioctofimose em animais é feito pela nefrotomia e/ou nefrectomia do rim acometido (MILECH et al., 2022; CAYE et al., 2024), quando o órgão não apresenta mais viabilidade (SAPIN et al., 2017b). Ademais, a remoção cirúrgica dos exemplares do parasito também é necessária quando os mesmos se localizam em outros sítios de infecção (PERERA et al., 2017b). A forma de tratamento da dioctofimose é uma questão problemática, já que a cirurgia é um método bastante invasivo, ao contrário do que ocorre para outras helmintoses com disponibilidade de fármacos para o tratamento (SALGADO & SANTOS, 2016). A falta de opções farmacológicas eficazes para terapia ou para prevenção da dioctofimose agrava ainda mais a saúde dos animais e humanos suscetíveis. Ainda assim, caso houvesse algum medicamento capaz de inviabilizar o nematódeo presente no HD, a expulsão do parasito do rim poderia trazer malefícios secundários devido ao seu tamanho, como obstrução uretral, por exemplo (STAINKI et al., 2011; PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015), sendo que a intervenção cirúrgica continuaria se fazendo necessária para retirada dos helmintos nos sítios de infecção (BACH et al., 2016).

Dessa forma, é essencial a realização de pesquisas científicas que busquem opções de controle da dioctofimose a fim de prevenir a infecção de *D. renale* em animais e humanos. Nesse sentido, as plantas medicinais podem vir a contribuir com a solução da problemática do tratamento e controle da enfermidade. No entanto, ainda não foram encontrados estudos avaliando o potencial ovicida de plantas medicinais em *D. renale*. Por isso, a partir do resgate empírico, optou-se por estudar a espécie *Solanum lycocarpum* (Solanaceae), uma planta arbustiva e nativa presente no cerrado da região central do Brasil (FELFILI et al., 1992; CORRÊA et al., 2000; BAILÃO et al., 2015). *Solanum lycocarpum* é uma espécie robusta capaz de crescer e de se desenvolver em condições ambientais desfavoráveis e com baixa disponibilidade de água (VIDAL et al., 1999). A árvore pode atingir até quatro metros de altura, sendo que cada uma pode gerar de 40 a 100 frutos (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004). Estes podem atingir o peso de 400 a 900 gramas e produzir, em média, 545 sementes cada (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004; PINTO et al., 2007). Quando verde, o fruto é constituído de polpa bastante firme e de coloração branca; mas quando se torna maduro, a polpa passa a apresentar uma coloração amarelada, macia, aromática e de gosto adocicado (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004). Ademais, os frutos de *S. lycocarpum* são utilizados para o tratamento de hepatite e icterícia (MESSIAS et al., 2015), assim como para o controle de diabetes, obesidade e redução do nível de colesterol (DALL'AGNOL & LINO VON POSER, 2000). A partir da polpa do fruto verde, é produzido um polvilho que é utilizado como fitoterápico em forma de cápsulas devido a sua provável ação medicinal (DALL'AGNOL & LINO VON POSER, 2000).

As pesquisas com *S. lycocarpum* têm demonstrado potencial antiparasitário em protozoários (MOREIRA et al., 2013; MARTINS et al., 2015). Por ser popularmente conhecida por prevenir a dioctofimose em lobos-guarás (*Chrysocyon brachyurus*), uma vez que os seus frutos são as principais fontes de alimento para esses animais (SANTOS et al., 2003), acredita-se que *S. lycocarpum* possa apresentar também atividade frente a *D. renale*. O conhecimento popular a respeito da atividade antiparasitária de plantas é uma excelente base para que sejam iniciadas investigações acerca do seu efeito terapêutico (CARNEIRO et al., 2014). Assim, frente à dificuldade de tratamento dos animais parasitados por *D. renale*, acredita-se que a intervenção no ciclo ambiental do nematódeo por meio de extratos de *S. lycocarpum* seja de grande importância, a fim de prevenir a ocorrência da dioctofimose,

principalmente em regiões que apresentam elevada casuística da parasitose, como é o caso do extremo sul do RS.

O município de Pelotas é caracterizado com a maior casuística mundial de dioctofimose em caninos, sendo registrados 92 cães com a parasitose até 2015 (RAPPETI et al., 2017), além de outros diagnósticos realizados (PERERA et al., 2017a,b; CAYE et al., 2024). Outros animais, como felinos domésticos e animais silvestres, também têm sido identificados com a doença, tanto em Pelotas quanto no Capão do Leão (SILVA et al., 2017; ECHENIQUE et al., 2018; TRINDADE et al., 2018), assim como possíveis HP (peixes, tartarugas e serpente) têm sido identificados nesses municípios (MASCARENHAS & MÜLLER, 2014; MASCARENHAS et al., 2016; MASCARENHAS et al., 2017; MASCARENHAS et al., 2018; MASCARENHAS et al., 2019). A partir dos diversos casos relacionados à dioctofimose em animais na região sul do RS, o estudo da epidemiologia da parasitose se faz necessária para compreensão dos fatores relacionados à infecção de *D. renale*, sendo eles relacionados aos animais e também ao ambiente em que vivem.

Um fator importante a ser considerado é que animais com parasitismo renal são responsáveis pela disseminação de ovos no ambiente, sendo que os helmintos podem fazer a postura milhões de ovos até o diagnóstico e tratamento, podendo estes serem férteis e darem sequência ao ciclo (MEASURES, 2001). No entanto, é desconhecido o período de tempo que os HD permanecem eliminando ovos pela urina após a remoção cirúrgica dos helmintos, o que também pode vir a contribuir para a propagação do ciclo do nematódeo. Assim, o conhecimento a respeito da epidemiologia e da disseminação de ovos pelo parasito podem vir a favorecer o estabelecimento de métodos de controle e profilaxia da dioctofimose na região.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

Investigar a dioctofimose em cães e gatos na região Sul do Rio Grande do Sul e avaliar o efeito ovicida de extratos vegetais de *Solanum lycocarpum* frente a *Dioctophyme renale*

2.2 Objetivos específicos

- * Realizar um inquérito de casos de cães e gatos com dioctofimose diagnosticados em clínicas veterinárias de Pelotas e Capão do Leão, bem como do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas;

- * Caracterizar os casos de dioctofimose em cães e gatos, abrangendo aspectos epidemiológicos, clínicos e diagnósticos, e comparar os dados dos animais parasitados por *Dioctophyme renale* que passaram por procedimento cirúrgico no HCV-UFPel, com ênfase nas particularidades do parasitismo e das condições dos animais;

- * Determinar o período de eliminação de ovos de *D. renale* pela urina de cães naturalmente parasitados após a realização de nefrectomia;

- * Calcular a quantidade total de ovos eliminados previamente e após a cirurgia em cada paciente parasitado, e comparar a taxa de eliminação de ovos nos dias analisados;

- * Verificar o potencial ovicida *in vitro* de diferentes concentrações de extratos aquosos de *S. lycocarpum* sobre a inibição de embrionamento de ovos de *D. renale* e determinar a melhor concentração ovicida;

- * Verificar a citotoxicidade *in vitro* dos extratos vegetais de *S. lycocarpum* em células Madin Derby Bovine Kidney (MBDK) nas doses testadas em ovos de *D. renale* e também em doses maiores.

3 Artigos

3.1 Artigo 1

Inquérito de cães (*Canis lupus familiaris*) parasitados por *Dioctophyme renale* na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil

Soliane Carra Perera, Carolina Silveira Mascarenhas, Gertrud Müller Antunes,
Josaine Cristina da Silva Rappeti, Marlete Brum Cleff

Será submetido à Revista Brasileira de Medicina Veterinária

Survey of dogs (*Canis lupus familiaris*) parasitized by *Diectophyme renale* in the Southern region of Rio Grande do Sul, Brazil

Inquérito de cães (*Canis lupus familiaris*) parasitados por *Diectophyme renale* na região Sul do Rio Grande do Sul, Brasil

Diectophimosis in dogs in the Southern Rio Grande do Sul, Brazil

Abstract

Diectophimosis is a zoonotic disease caused by the giant kidney worm, *Diectophyme renale*, which is responsible for the destruction of the renal parenchyma in domestic and wild carnivores, and in man. Due to the occurrence of the disease in several animal species in the extreme South of Rio Grande do Sul (RS), Brazil, this study aimed to identify the cases of diectophimosis in domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) diagnosed in veterinary care centers located in Pelotas and Capão do Leão, RS, highlighting the characteristics of the parasitized animals, as well as the importance and zoonotic potential of the parasitosis for the region. The study was carried out from the diagnoses made between 2006 and 2020 through the analysis of race, sex, age, clinical signs, diagnostic methods, infection sites, origin and life condition of the parasitized dogs. There were 240 cases of diectophimosis in dogs, with 96,25% (n=232) detected as of 2012. Most dogs were mixed breed (80,67%) and females (62,91%), and ultrasound was the main method of diagnosis (n=211), followed by surgical findings. The right kidney (n=194) and adult animals were the most affected, with emphasis on those aged between one and four years (50,73%). Regarding the condition of life, 79,41% of the reported cases had a history of having been adopted, wandering or semi-family members, factors that can influence *D. renale* infection. The city of Pelotas stood out with the largest sample in this survey (n=175), followed by Capão do Leão (n=19) and Morro Redondo (n=1). Thus, it is concluded that this study has relevance both for animal health and for public health of the population of the Southern region of RS, standing out for the largest worldwide series of diectophimosis in dogs.

Keywords: diectophimosis, canines, epidemiology, public health, zoonosis.

Resumo

A dioctofimose é uma enfermidade zoonótica causada pelo verme gigante do rim, *Dioctophyme renale*, o qual é responsável pela destruição do parênquima renal em carnívoros domésticos e silvestres, e no homem. Devido à ocorrência da doença em diversas espécies animais no extremo Sul do Rio Grande do Sul (RS), Brasil, este trabalho teve como objetivo identificar os casos de dioctofimose em cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) diagnosticados em centros de atendimento veterinário localizados em Pelotas e Capão do Leão, RS, destacando as características dos animais parasitados, bem como a importância e o potencial zoonótico da parasitose para a região. O estudo foi realizado a partir dos diagnósticos feitos entre 2006 e 2020 através da análise de raça, sexo, idade, sinais clínicos, métodos de diagnóstico, sítios de infecção, procedência e condição de vida dos cães parasitados. Verificou-se 240 casos de dioctofimose em cães, sendo 96,25% (n=232) detectados a partir de 2012. A maioria dos cães eram sem raça definida (80,67%) e fêmeas (62,91%), e a ecografia foi o principal método de diagnóstico (n=211), seguido dos achados cirúrgicos. O rim direito (n=194) e os animais adultos foram os mais acometidos, destacando-se aqueles com idade entre um e quatro anos (50,73%). Com relação à condição de vida, 79,41% dos casos informados apresentaram histórico de terem sido adotados, errantes ou semidomiciliados, fatores que podem influenciar na infecção por *D. renale*. A cidade de Pelotas se destacou com a maior casuística neste inquérito (n=175), seguida do Capão do Leão (n=19) e de Morro Redondo (n=1). Assim, conclui-se que esse estudo apresenta relevância tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública da população da região Sul do RS, destacando-se pela maior casuística mundial de dioctofimose em cães.

Palavras-chave: Dioctofimose, caninos, epidemiologia, saúde pública, zoonose.

Introdução

A dioctofimose é uma zoonose causada pelo nematódeo *Dioctophyme renale*, sendo os carnívoros domésticos e silvestres os mais afetados, destacando-se os cães de vida errante (SILVEIRA et al., 2015; VIEIRA et al., 2017; YANG et al., 2019). O helminto causa a destruição do parênquima renal dos hospedeiros definitivos, sendo o rim direito o órgão de eleição para a parasitose. Porém, há também relatos de parasitismo em locais ectópicos, como na cavidade abdominal, tecido subcutâneo, útero, glândula

mamária, coluna vertebral, testículo, uretra, entre outros (STAINKI et al., 2011; VEIGA et al., 2012; HERNÁNDEZ-RUSSO et al., 2014; TOKIWA et al., 2014; BACH et al., 2016; PERERA et al., 2017a; PARAS et al., 2018).

Uma das formas de diagnóstico da parasitose é através da visualização de ovos do helminto no sedimento urinário. Entretanto, resultados falso-negativos podem ocorrer se houver formas imaturas do nematódeo no rim ou apenas espécimes machos, e também quando o rim não estiver sendo parasitado (PEDRASSANI et al., 2015). Sendo assim, os exames de imagem são os meios mais confiáveis para o diagnóstico por permitirem a identificação do parasito em diferentes órgãos e regiões anatômicas do animal acometido (LIMA et al., 2016).

Nos últimos anos, muitos casos de dioctofimose têm sido relatados em animais silvestres e domésticos em Pelotas, principalmente em cães (PESENTI et al., 2012; PERERA et al., 2017a,b; RAPPETI et al., 2017; ECHENIQUE et al., 2018). A ocorrência desses casos na cidade tem chamado a atenção, o que provavelmente acontece devido ao grande número de animais semidomiciliados e errantes, associado às características ambientais de Pelotas. Esta cidade é rodeada pela Lagoa dos Patos e pelo Canal São Gonçalo, havendo diversas áreas alagadiças (CORADI et al., 2009), tornando o ambiente favorável para o desenvolvimento e manutenção de *D. renale* (RAPPETI et al., 2017). Dessa forma, são ainda maiores as chances de desenvolvimento dos hospedeiros intermediário e paratênicos do helminto, assim como os riscos de transmissão da doença nessa região (PEREIRA et al., 2006). Além disso, larvas infectantes têm sido identificadas em peixes, tartarugas e serpente provenientes de Pelotas e Capão do Leão, sugerindo que esses animais possam servir como possíveis hospedeiros paratênicos do helminto (MASCARENHAS & MÜLLER, 2014; MASCARENHAS et al., 2017, 2018, 2019).

Portanto, o objetivo desse trabalho foi identificar os casos de dioctofimose diagnosticados em centros de atendimento clínico e de diagnóstico veterinário localizados em Pelotas e Capão do Leão, Rio Grande do Sul (RS), destacando as características dos animais parasitados.

Materiais e Métodos

Foram contabilizados e avaliados casos de cães diagnosticados com dioctofimose em clínicas veterinárias e centros de diagnóstico veterinários de Pelotas, RS, assim como

do Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) localizado no Capão do Leão, RS. O período de análise foi de dezembro de 2006 a janeiro de 2020, e os dados avaliados foram: raça, sexo idade, sinais clínicos, métodos de diagnóstico, sítios de infecção, procedência e condição de vida dos cães parasitados.

Resultados e Discussão

Casuística da dioctofimose

Ao todo, 30 instituições de atendimento veterinário participaram desse inquérito, sendo 26 clínicas veterinárias e três centros de diagnóstico veterinário (dois de exames de imagem e um de análises clínicas) de Pelotas, além do HCV.

Os dados informados pelos médicos veterinários foram de 240 cães diagnosticados entre dezembro de 2006 e janeiro de 2020, sendo observado um maior acometimento dos animais entre 2012 e 2020 (Figura 1), com 232 cães diagnosticados (média de 28,87 casos por ano), correspondendo a 96,25% da casuística desse inquérito. Vale salientar que nos anos de 2017 a 2020 não estão inclusos os casos diagnosticados por um dos centros de diagnóstico veterinário por imagem, local que forneceu 33,46% dos dados obtidos nesse estudo. Portanto, acredita-se que o número de animais positivos para essa doença entre 2017 e 2020 seja similar ou até mesmo maior do que nos anos anteriores, uma vez que tem sido observado uma casuística crescente da dioctofimose na região entre os meses de dezembro de 2006 e 2016 (Figura 1). Destaca-se também que Rappeti e colaboradores (2017) divulgaram o número de diagnósticos da helmintose obtidos em um dos centros de diagnóstico veterinário por imagem e no HCV, ambas instituições que fazem parte desse trabalho, e verificaram a ocorrência de 78 casos em cães até 2015, sendo estes também inclusos no presente estudo. A partir dos dados obtidos, verificou-se um caso extra no ano de 2011 no HCV e mais casos em ambos os locais no decorrer do ano de 2015, aumentando a casuística nesse período para 94 cães com dioctofimose, o que correspondeu a um aumento de 20,51%.

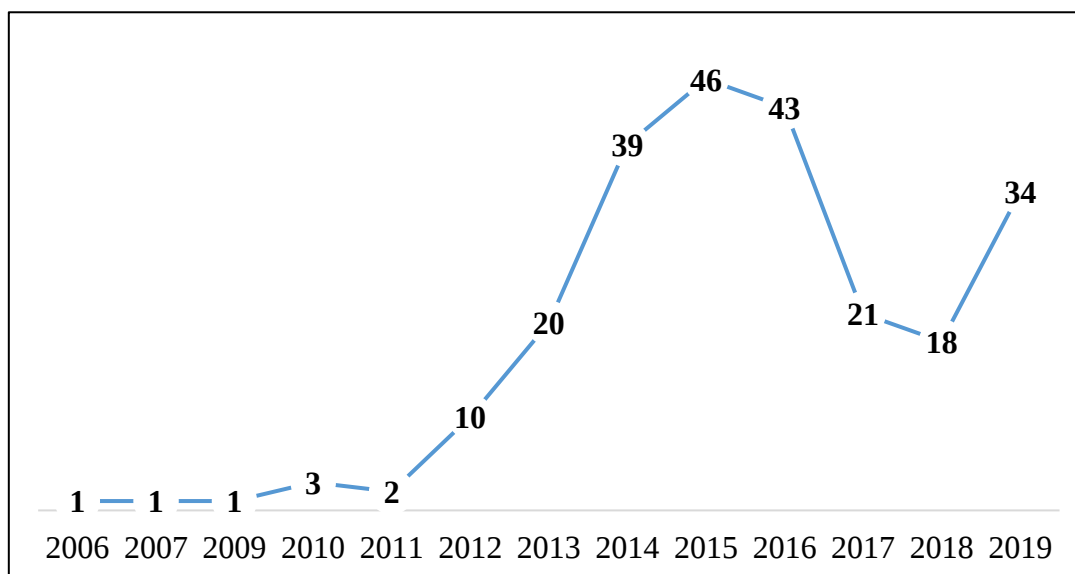


Figura 1. Gráfico demonstrativo do número de casos de diotofimose em cães diagnosticados em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinários e HCV-UFPel de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2019.

Neste trabalho, foi possível observar que os casos de diotofimose tem aumentado com o passar dos anos no Sul do RS, o que pode ser justificado por uma possível maior ocorrência de infecção dos animais nesse período. No entanto, acredita-se que seja principalmente devido ao aumento do número de exames de ultrassom na cidade de Pelotas a partir de 2010 e 2011 com as inaugurações de um grande centro de diagnóstico veterinário por imagem na cidade e da realização de exames de ultrassom no HCV. A partir disso, sabe-se que esse exame possibilita a identificação do helminto em diferentes sítios de infecção, tornando-se uma importante e eficaz ferramenta de diagnóstico da doença (COTTAR et al., 2012; SILVEIRA et al., 2015; RADMAN et al., 2017; RAPPETI et al., 2017).

Sexo, raça e idade dos cães parasitados

Entre os 240 cães com diotofimose desse estudo, observou-se uma prevalência de 62,91% em fêmeas, correspondendo praticamente ao dobro do que nos machos, resultado semelhante ao observado por outros autores (SILVEIRA et al., 2015; PEDRASSANI et al., 2017). Pedrassani et al. (2017) verificaram uma frequência estatisticamente significativa de parasitismo das fêmeas (2,62 vezes maior) em relação aos machos. Uma das hipóteses dos autores para esse dado seria a imunossupressão

causada nos períodos de gestação, sendo esse um possível fator de risco que pode contribuir para a maior ocorrência da parasitose em fêmeas.

Com relação à raça, foi possível obter esse dado de 238 cães. Observaram-se 14 raças distintas, porém a maior casuística foi de animais sem raça definida (SRD), correspondendo a 80,67% dos casos informados (Tabela 1) e corroborando com a literatura (KOMMERS et al., 1999; MESQUITA et al., 2014; SILVEIRA et al., 2015). É importante ressaltar que 91,13% (n=72) dos 79 cães SRD diagnosticados nas clínicas veterinárias e em um dos centros de diagnóstico desse trabalho haviam sido errantes, adotados ou foram semidomiciliados em alguma ocasião, indicando que os mesmos já haviam tido acesso livre à rua. Este é um importante fator de risco, pois os animais nessa condição costumam apresentar hábitos alimentares pouco seletivos (KOMMERS et al., 1999), aumentando a chance de se infectarem com *D. renale* a partir da ingestão de hospedeiros paratênicos (HP) contaminados e de água contaminada com o hospedeiro intermediário (HI) (PEDRASSANI et al., 2017; RAPPETI et al., 2017).

Nesse estudo, entre os cães com raça definida, aquelas diagnosticadas com maior frequência foram Teckel e Poodle, seguidas das demais raças (Tabela 1), correspondendo a apenas 19,33% dos casos. Embora seja menos comum a ocorrência de diotofimose em cães de raça, outros autores também já relataram a presença de *D. renale* nas raças Pit Bull (LUZ et al., 2014), Boxer, Rottweiler e Boiadeiro Australiano, sendo os diagnósticos feitos com menor frequência do que em cães SRD (SILVEIRA et al., 2015).

Tabela 1. Relação em ordem decrescente das raças de cães diagnosticados com dirofoimose em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPe de Pelotas Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.

Raça	Nº de casos	%
SRD	192	80,67
Dachshund / Teckel	12	5,04
Poodle	9	3,78
Labrador	5	2,10
Pit Bull	4	1,68
Bull Terrier	3	1,26
Pinscher	3	1,26
Rottweiler	2	0,84
Shih Tzu	2	0,84
Boiadeiro Australiano	1	0,42
Boxer	1	0,42
Bulldogue Francês	1	0,42
Ovelheiro	1	0,42
Schnauzer	1	0,42
Yorkshire	1	0,42
Total	238	100

Entre os animais desse estudo, foi informada a idade de apenas de 136 pacientes ao serem diagnosticados com dirofoimose. A partir dos dados obtidos, observou-se o parasitismo em todas as faixas etárias: filhotes (menos de um ano de vida), adultos (entre um e sete anos) e idosos (a partir de oito anos). Entretanto, a maior casuística de dirofoimose ocorreu em cães adultos (n=89; 65,44%), sendo que aqueles com idade entre um e quatro anos foram diagnosticados em 50,73% dos casos (n=69) deste inquérito (Figura 2). O diagnóstico em animais entre 1 e 15 anos, correspondeu a 89,70% (n=122), dado semelhante observado por Pedrassani e colaboradores (2017) que também verificaram uma maior frequência da parasitose em animais acima de 1,6 anos. No presente estudo, não foi informada a idade exata de 43,33% (n=104) dos 240 cães

diagnosticados. Entre esses casos, foi descrito que sete cães eram filhotes, 21 eram adultos e nove eram idosos.

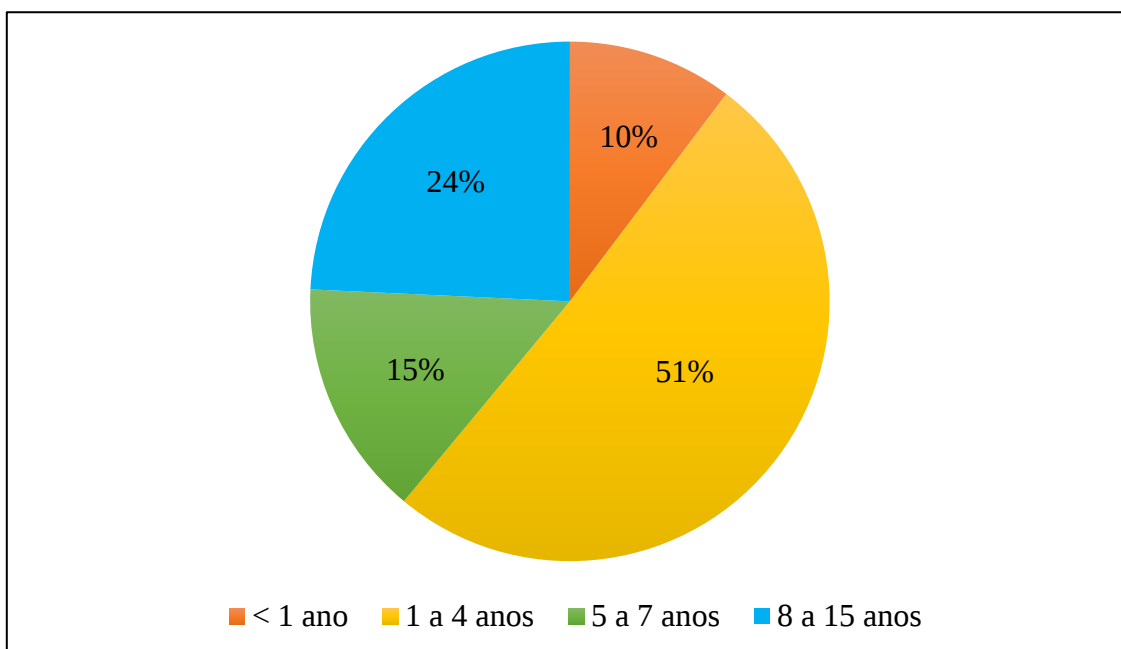


Figura 2. Representação das taxas de idade dos cães (n=136) no momento em que foram diagnosticados com *D. renale* em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPel de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.

Vale salientar que os filhotes com idade informada apresentaram entre cinco e 10 meses de vida. Embora a ocorrência da parasitose em filhotes tenha sido de 10,3% (menor do que nas demais faixas etárias), ainda assim é um dado significativo, principalmente por ser maior quando comparado a outros estudos, sendo que em um deles foi observada a enfermidade em apenas 3,58% dos animais com menos de dois anos (SILVEIRA et al., 2015). A ocorrência da dioctofimose em filhotes sugere que não há predisposição de infecção por idade, isto é, desde que o hospedeiro definitivo (HD) se alimente com os HI e HP infectados, há a possibilidade de que ocorra a infecção. Ademais, Pedrassani et al. (2017) sugerem que a prevalência da dioctofimose nas diferentes idades indique que os cães são infectados ainda muito jovens, podendo permanecer com o nematódeo por longos períodos de tempo. Isso é preocupante pois esses animais podem auxiliar na manutenção do ciclo de *D. renale* até que eles apresentem algum sinal clínico para que sejam diagnosticados e tratados adequadamente.

Métodos de diagnóstico

Em 232 casos desse estudo, foram constatadas cinco formas de diagnóstico da parasitose, entre elas os exames de ecografia, urina e citologia aspirativa, bem como por achados ocasionais de cirurgia e necropsia. Sabe-se que no HCV, os 74 pacientes com diotofimose foram diagnosticados por ultrassom e, em alguns casos, por exame de urina quando houve presença de ovos. No entanto, não foi informado o número exato de pacientes diagnosticados apenas por ultrassom ou por ambos os exames. Por outro lado, nas clínicas veterinárias e nos centros de diagnóstico, sabe-se os métodos de diagnóstico realizados em 147 casos. Entre eles, 120 (81,63%) foram detectados apenas por exame de ultrassom, seguido de 17 (11,56%) por achado cirúrgico. Além disso, cinco casos (3,40%) foram diagnosticados através dos exames de urina e ultrassom, três (2,04%) apenas por urinálise, um (0,68%) pelos exames de ultrassom e citologia aspirativa, e um (0,68%) por necropsia (Tabela 2).

Tabela 2. Métodos diagnósticos em ordem decrescente de cães com diotofimose em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPel de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.

Métodos de diagnóstico	Nº de casos
Ecografia	120
Achado cirúrgico	17
Ecografia e urinálise	5
Urinálise	3
Ecografia e citologia aspirativa	1
Necropsia	1
Total	147

A detecção de ovos de *D. renale* na urina e na análise pós-cirúrgica do rim parasitado dos animais acometidos tem sido descrita (PERERA et al., 2017a; SAPIN et al., 2017a), mas essa é a primeira vez que é citado o diagnóstico da diotofimose através da identificação de ovos em exame citológico. Neste caso, a suspeita era de que o paciente tivesse um tumor firmena região poplítea, e por isso tal exame foi feito. Durante análise citológica, observou-se então os ovos do helminto, indicando que o tumor observado fora causado pela presença de um exemplar fêmea de *D. renale* no tecido subcutâneo naquele local.

A ecografia auxiliou no diagnóstico de 211 casos (90,94%) de dioctofimose em todos os locais de estudo desse trabalho, sendo utilizado tanto de forma isolada como concomitantemente com outros exames. Através do exame de ultrassom, foi possível visualizar exemplares de *D. renale* em diversos sítios de infecção além dos rins. Além dos helmintos, as imagens de ultrassonografia permitem identificar também outras alterações nos órgãos, como: estrutura do rim parasitado, hipertrofia compensatória do rim contralateral, nível de destruição (parcial ou total) do parênquima renal, assim como diagnosticar a parasitose mesmo nos casos em que não são visualizados ovos do parasito na urina (RADMAN et al., 2017). Outra vantagem da ecografia é a capacidade desse exame em detectar a presença de formas pré-patentes do nematódeo, permitindo que o tratamento da doença seja realizado antes que o estágio patente do parasito seja alcançado (RADMAN et al., 2017). Entretanto, mesmo sendo uma técnica altamente eficaz, em alguns casos, pode haver equívocos no diagnóstico da dioctofimose, obtendo-se resultados falso-negativos ou falso-positivos devido às semelhanças do parasito com estruturas anatômicas fisiológicas do organismo, como os intestinos (RAHAL et al., 2014; RADMAN et al., 2017). A mesma constatação pode ser obtida através do diagnóstico de dioctofimose por tomografia computadorizada (RAHAL et al., 2014), sendo esta técnica pouco utilizada na medicina veterinária até o momento.

Dessa forma, a ecografia é um excelente método para identificar exemplares de *D. renale*, sendo o principal achado a presença de estruturas tubulares de bordos hiperecogênicos e centro hipoecoico (FERREIRA et al., 2010). Dessa forma, é considerado um método eficiente, pois possibilita reconhecer a localização do parasito, assim como avaliar anatomicamente o rim acometido com relação à arquitetura do parênquima, tamanho do órgão, regularidade dos bordos, definição córticomédular e ecogenicidade do tecido (COTTAR et al., 2012; EICKE et al., 2014). O exame de ultrassom ainda tem como vantagem de ser um método de rápida execução, o que favorece o diagnóstico da doença em animais que apresentam sinais clínicos pouco específicos, tornando-se determinante para o diagnóstico precoce e definitivo da parasitose (COTTAR et al., 2012; SILVEIRA et al., 2015).

Além dos métodos citados neste estudo, o uso de técnicas de diagnóstico indireto por sorologia poderia ser importante para detectar estágios precoces e não patentes da doença, possibilitando a realização do diagnóstico de forma antecipada e, consequentemente, reduzindo o nível de lesões no parênquima renal (RADMAN et al., 2017). Além disso, seria possível facilitar a recuperação do animal após a cirurgia,

melhorar a sua qualidade de vida e ampliar a expectativa de vida do mesmo, além de que uma intervenção tão precoce evitaria a disseminação de ovos de *D. renale* no ambiente (RADMAN et al., 2017). Nesse sentido, Pedrassani e colaboradores (2015) desenvolveram uma forma de detecção de anticorpos no soro de cães parasitados com um teste de *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), o qual mostrou elevadas especificidade (93,8%) e sensibilidade (92,3%), sugerindo que esse teste sorológico pode ser eficaz para a detecção de cães infectados por *D. renale*. Além disso, novos estudos de diagnóstico sorológico para este nematódeo têm sido desenvolvidos também por Capella e colaboradores (2024) em Pelotas com resultados promissores.

Sítios de infecção

O nematódeo *D. renale* é conhecido por parasitar com maior frequência o rim direito dos animais (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015), o que está de acordo com o observado nesse estudo. Do total de pacientes com dioctofimose, foi informado o sítio de infecção de 234 cães. Entre eles, o helminto foi localizado apenas no rim direito em 69,23% dos casos (n=162), seguido da infecção múltipla de rim direito e cavidade abdominal (n=24; 10,25%) e apenas na cavidade abdominal (n=19; 8,11%), representando 87,59% da casuística (Tabela 3), corroborando com outros autores que tem identificado casos semelhantes (SILVEIRA et al., 2015; RADMAN et al., 2017).

O nematódeo também foi detectado em nove cães (3,84%) apenas no rim esquerdo e em infecções múltiplas junto ao rim direito e/ou à cavidade abdominal (Tabela 3). Em dois desses casos, ambos os rins estavam parasitados, levando à dioctofimose renal bilateral. Um deles foi detectado em 2019 em uma cadela com muitos parasitos no rim direito e na cavidade abdominal, havendo apenas um no rim esquerdo. Apesar do elevado grau de parasitismo, a paciente sobreviveu à infecção após o tratamento cirúrgico. O outro caso também foi em uma cadela que apresentou *D. renale* em ambos os rins, porém não resistiu à cirurgia uma vez que os danos causados pelos parasitos já haviam levado à perda da função renal, sendo então optado pela eutanásia. Embora seja raro, há relatos de dioctofimose em rim esquerdo em animais e humanos, sendo muitas vezes fatal aos hospedeiros (LI et al., 2010; SAPIN et al., 2017b). A fim de buscar maiores chances de salvá-los, o diagnóstico precoce é essencial antes que os helmintos tenham provocado muitas lesões. Além disso, recomenda-se a realização de nefrotomia nos casos em que ambos os rins estiverem parasitados (SAPIN et al., 2017b), realizando-se apenas a

remoção dos parasitos nos rins afetados para que as células renais ainda viáveis auxiliem na recuperação do animal após o tratamento.

Tabela 3. Sítios de infecção por *D. renale* em cães diagnosticados em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPel de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.

Sítios de infecção	Nº de casos
RD	162
RD + Cav.	24
Cav.	19
Subcutâneo	4
Escroto	4
RE	3
Rim	3
Músculo reto abdominal	1
RD + RE	1
RD + RE + Cav.	1
RE + Cav.	1
RD + Cav. + Bexiga	1
RD + Cav. + Bexiga + Tórax	1
RD + Cav. + Tórax	1
RD + Cav. + Escroto	1
RD + Cav. + Ureter	1
RD + Subcutâneo	1
Cav. + Útero	1
Cav. + Escroto	1
Testículo	1
Intraneoplásico (Cav.)	1
Total	234

RD: rim direito; RE: rim esquerdo; Cav.: cavidade abdominal.

Além dos casos nos rins direito e esquerdo, também foram informados quatro casos de infecção renal, porém sem especificação de qual órgão, totalizando a ocorrência de *D. renale* em rim em 86,32% dos casos (n=202). Ainda, embora tenha sido observado neste estudo, a identificação de *D. renale* na cavidade torácica é raramente relatado em animais com dioctofimose (MEYER et al., 2013; CAMARGO et al., 2013). Esse é um dado relevante pelo fato de que o nematódeo pode provocar hemorragia pulmonar e, consequentemente, causar o óbito dos animais infectados (CAMARGO et al., 2013). Além disso, a presença de helmintos no tecido subcutâneo é também incomum, mas já foi relatada por Silveira et al. (2015) em dois casos em que os autores notaram aumento de volume irregular, de aspecto cilíndrico e disposto de forma espiralada nas regiões onde os parasitos estavam localizados.

Essa observação foi semelhante a um dos casos do presente estudo, uma vez que foi observado aumento de volume com consistência endurecida na região poplíteia de um animal infectado, suspeitando-se de uma neoplasia no local. Nesse caso, foi feita a citologia aspirativa, sendo observados ovos de *D. renale*. Após encaminhamento para realização de ecografia, o helminto não estava mais no local citado, indicando que o mesmo migrou para a região inguinal e permaneceu no tecido subcutâneo, onde foi detectado através de exame de ultrassom. Também foi observada a migração parasitária em um cão diagnosticado no HCV-UFPel. Em um primeiro momento, observou-se aumento de volume testicular e na base do pênis, sendo diagnosticado por ultrassom a presença de *D. renale* no tecido subcutâneo e cavidade abdominal inguinal lateralmente ao pênis. Durante o procedimento cirúrgico para remoção do parasito, foi necessário realizar celiotomia uma vez que o parasito não estava mais no local indicado pelo exame de ultrassom realizado previamente. No decorrer da cirurgia, o helminto foi identificado no músculo reto abdominal junto a galerias formadas provavelmente durante a sua migração (CAYE et al., 2015).

Sinais clínicos

Com relação aos sinais clínicos, foi possível obter essa informação apenas de 68 dos 81 casos diagnosticados nas clínicas veterinárias particulares, do centro de análises clínicas veterinário e de um dos centros de diagnóstico por imagem veterinário de Pelotas. Entre eles, 30,88% dos pacientes (n=21) não apresentaram nenhum sinal clínico perceptível, enquanto que a maioria apresentou sintomatologia, correspondendo a 69,11% dos casos informados (n=47), divergindo da literatura que cita que a dioctofimose

costuma ser assintomática (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015; SILVEIRA et al., 2015).

Entre os sinais clínicos, o mais comum foi a hematúria, sendo esta observada de forma isolada em 44,11% dos casos (n=30), e em 5,88% (n=4) de forma concomitante a outros sinais, como emagrecimento e dor abdominal/lombar. Além disso, também foi relatada a presença de dor abdominal (leve a severa), assim como anemia, inapetência, emagrecimento, desnutrição, fraqueza, dor à palpação na região onde estava localizado o parasito, vômito, diarreia e aumento testicular. No exame clínico, ainda foram detectadas alterações como peritonite, úlceras orais e necrose da língua. Radman e colaboradores (2017) também observaram a presença de sangue na urina de animais parasitados, associada à fadiga dos mesmos, considerando ambos sinais como fatores de risco para a diocetofimose. Além disso, os mesmos autores perceberam que 42% dos animais que apresentaram baixo peso corporal também estavam parasitados por *D. renale*, associando essa característica à doença. Da mesma forma, emagrecimento progressivo e dor abdominal também foram relatados em quatro cães com diocetofimose avaliados clinicamente por Silveira et al. (2015).

Condição de Vida

Em todos os locais de estudo, foi possível identificar a cidade em que 195 cães (81,25%) quando diagnosticados com diocetofimose, sendo elas: Pelotas (n=175; 89,74%), Capão do Leão (n=19; 9,74%) e Morro Redondo (n=1; 0,51%). Considerou-se também importante informações a respeito da procedência dos animais dessa pesquisa, uma vez que ela pode influenciar no parasitismo precoce do animal. No entanto, a procedência só foi obtida a partir de 38 casos diagnosticados nas clínicas veterinárias de Pelotas. Entre eles, 33 cães eram de Pelotas, três do Capão do Leão, um de Morro Redondo e um de Santa Maria (Tabela 4).

Tabela 4: Cidades de moradia e procedência dos cães diagnosticados com *D. renale* em clínicas veterinárias, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPel de Pelotas e Capão do Leão, RS, entre 2006 e 2020.

Município	Moradia Nº de cães	Procedência Nº de cães
Pelotas	175	33
Capão do Leão	19	3
Morro Redondo	1	1
Santa Maria	0	1
Total	195	38

O município de Pelotas se destacou com maior número de casos, correspondendo a 89,74% (n=175) dessa casuística, provavelmente pelo fato de as clínicas veterinárias e centros de diagnóstico veterinário estarem situados nessa cidade. Além disso, embora o HCV-UFPel esteja localizado no Capão do Leão, este é um local de referência em assistência veterinária para a região Sul do RS, prestando atendimentos a muitos animais de Pelotas. Ainda há a questão de este município apresentar maior população de animais que Capão do Leão e Morro Redondo, e por isso o número de atendimentos veterinários ser consequentemente maior. Outro dado importante observado nesse estudo é que pela primeira vez foi relatada a ocorrência da parasitose em um animal proveniente de Morro Redondo, RS, destacando a relevância da doença não só para Pelotas, mas também para municípios vizinhos como este.

Assim o conhecimento a respeito das cidades de moradia e de procedência são importantes para a epidemiologia da dirofilimose, a condição de vida dos cães parasitados também tem influência na infecção por *D. renale*. Por isso, informações sobre a condição de vida dos cães foram obtidas a partir de 68 cães diagnosticados nas clínicas veterinárias e em um dos centros de diagnóstico por imagem veterinário, conforme apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Relação no número de casos de dioctofimose de acordo com a condição de vida anterior e atual dos animais (n=68) que foram diagnosticados nas clínicas veterinárias e em um centro de diagnóstico por imagem veterinário de Pelotas, RS, entre 2006 e 2019.

Condição de vida		Nº de casos
Anterior	Atual	
Errante	Errante	3
Errante	Domiciliado	2
Errante	Não informada	10
Adotado	Semidomiciliado	6
Adotado	Domiciliado	18
Adotado	Não informada	7
Semidomiciliado	Semidomiciliado	3
Domiciliado	Domiciliado	8
Não informada	Semidomiciliado	5
Não informada	Domiciliado	6
Total		68

Dessa forma, é possível perceber que 79,41% (n=54) dos 68 animais diagnosticados com dioctofimose foram adotados, errantes e/ou semidomiciliados, e, portanto, obtiveram livre acesso à rua durante algum período da sua vida, indicando a maior chance de ingestão do HI e também de HP portadores da larva L3 do nematódeo (HERNÁNDEZ-RUSSO et al., 2014). Além disso, a ocorrência de dioctofimose pode também estar relacionada a alguns hábitos dos animais, como nadar em rios e beber água de valeta (RADMAN et al., 2017), atividades facilmente realizadas por cães com acesso livre à rua. Todas essas questões se tornam ainda mais preocupantes nos municípios de Pelotas e Capão do Leão, onde têm sido identificados peixes, tartarugas e serpentes com larvas infectantes do nematódeo, podendo estes atuarem como possíveis novos HP de *D. renale* (MASCARENHAS & MÜLLER, 2014; MASCARENHAS et al., 2016, 2017, 2018).

Com relação aos animais adotados, sabe-se que a adoção ocorreu ainda quando 10 deles eram filhotes com menos de um ano de vida, sendo que seis foram criados de forma domiciliada em seguida. Entre eles, três cães tinham a idade de dois, três e nove meses

quando adotados. Esse dado é importante pois indica que os cães podem se parasitar ainda muito jovens se tiverem acesso irrestrito à rua, mesmo que seja por um período curto de tempo. Entretanto, é importante ressaltar também que houve oito casos (11,76%) de cães positivos para dioctofimose que viveram sempre de forma domiciliada. Assim, animais domiciliados também podem se infectar mesmo não tendo acesso irrestrito à rua. Situação semelhante foi observada por Silveira et al. (2015) em que 12 cães diagnosticados com a doença eram criados de forma domiciliada. Dessa forma, acredita-se que o risco de infecção por *D. renale* possa vir a ocorrer durante passeios ao ar livre ambientes que apresentem as formas de contaminação para os animais.

Epidemiologia e Fatores de Risco

Os relatos de *D. renale* demonstram que esse parasito gera riscos aos animais, principalmente quando os mesmos vivem em regiões ribeirinhas, as quais favorecem a manutenção de todos os elos do ciclo biológico (HERNÁNDEZ-RUSSO et al., 2014). Dessa forma, a ocorrência de animais parasitados por esse helminto no Brasil pode estar intimamente relacionada ao potencial hídrico de algumas regiões (PEREIRA et al., 2006), onde diversas cidades encontram-se localizadas à margem de rios (KANO et al., 2003; SILVEIRA et al., 2015), como é o caso do extremo Sul do RS. Essas questões são importantes no caso de Pelotas e cidades vizinhas, pois os mesmos estão situados às margens do Canal São Gonçalo, que liga a Lagoa dos Patos à Lagoa Mirim (VIEIRA, 2004; CORADI et al., 2009). Além disso, o Capão do Leão também é circundado pelo Rio Piratini (VIEIRA, 2004); enquanto que Pelotas é circundada pela Lagoa dos Patos, além de apresentar diversos arroios (Santa Bárbara, Pepino e Pelotas) que cruzam a cidade (CORADI et al., 2009).

Ademais, Pelotas apresenta clima subtropical úmido, com temperatura média no verão de 23°C entre 2012 e 2016, e índice pluviométrico anual de 1.749,1 mm no mesmo período (HALLAL et al., 2013; EMBRAPA, 2018). Devido às características geográficas de Pelotas, uma parcela da população exerce a atividade pesqueira (ANJOS et al., 2004) que, em conjunto com as demais particularidades citadas, favorece o desenvolvimento do ciclo completo de *D. renale*. Dessa forma, por ser uma doença zoonótica (YANG et al., 2019), a dioctofimose representa grande risco à saúde do homem, assim como a dos animais na região Sul do RS.

O desenvolvimento da larva L1 no interior dos ovos de *D. renale* é dependente da temperatura do meio aquático, sendo que o embrionamento ocorre entre 14°C e 30°C

(MACE & ANDERSON, 1975). Esse é um fator importante em Pelotas, uma vez que nas estações de outono e inverno (abril a setembro), a temperatura média mensal tem sido de 15,4°C entre os anos de 2010 e 2017 (EMBRAPA, 2018). Por outro lado, nas estações de primavera e verão (outubro a março), a temperatura média mensal tem sido de 21,7°C no mesmo período (EMBRAPA, 2018). Sendo assim, esses dados mostram que é possível ocorrer o desenvolvimento da larva L1 nos ovos de *D. renale* em todas as épocas do ano em Pelotas, mesmo nas estações mais frias, embora isto ocorra mais lentamente nos meses de baixa temperatura (PEDRASSANI et al., 2009a).

Além da adequada temperatura ambiental, a presença de HP pode facilitar a transmissão da parasitose (LIMA et al., 2016). Nesse sentido, tem-se pesquisado possíveis HP de *D. renale* em Pelotas e Capão do Leão, sendo encontradas larvas infectantes (L3) do helminto em peixes da espécie *Hoplosternum littorale* em Pelotas, assim como em serpente (*Philodryas patagoniensis*) no Capão do Leão, e em tartarugas de água doce da espécie *Trachemys dorbigni* em ambos os municípios, sugerindo que esses animais possam servir como HP do nematódeo (MASCARENHAS & MÜLLER, 2014; MASCARENHAS et al. 2016, 2017, 2018, 2019). Mesmo assim, devido à pouca quantidade de larvas L3 identificadas em peixes e anfíbios (PEDRASSANI et al., 2009b; MASCARENHAS et al., 2016), Rappeti et al. (2017) sugerem que esses HP não sejam a principal fonte de infecção aos animais. No entanto, vale salientar que a identificação de larvas L3 em carcaças de tartarugas foi inédita, sendo observada alta taxa de parasitismo (MASCARENHAS & MÜLLER, 2014), o que leva a crer que a adaptação do helminto a novos hospedeiros possa contribuir para aumentar a sua dispersão (RADMAN et al., 2017).

Assim como a quantidade de água e de HP são fatores que podem contribuir para a ocorrência de parasitismo por *D. renale*, cães parasitados também colaboram para a contaminação ambiental através da disseminação de ovos do nematódeo pela urina (PEDRASSANI et al., 2017). No extremo Sul do RS, acredita-se que animais domésticos e silvestres contribuam para essa disseminação de ovos, uma vez que cães, gatos, lontra (*Lontra longicaudis*), gato-do-mato-grande (*Leopardus geoffroyi*), furão-pequeno (*Galictis cuja*) e mão-pelada (*Procyon cancrivorus*) tem sido diagnosticados com as formas adultas de *D. renale* (PESENTI et al., 2012; ECHENIQUE et al., 2018; MASCARENHAS et al., 2018; TRINDADE et al., 2018, 2019). Dessa forma, por ser uma doença zoonótica (YANG et al., 2019), tanto os animais quanto humanos podem ser afetados pelo helminto, fazendo-se importante a verificação da prevalência da

dioctofimose principalmente para aqueles que usufruem dos rios para lazer, ingestão de água e pesca de alimentos (PEDRASSANI et al., 2017).

Casos de dioctofimose em humanos tem sido relatados em diversos países, entre eles nos Estados Unidos, Austrália, Iugoslávia, China, Japão, Coreia do Sul, Índia, Grécia, Irã, Indonésia, Tailândia e inclusive no Brasil (LISBOA, 1945; PARK et al., 2013; AGRAWAL et al., 2014; YANG et al., 2019), sendo ao menos 12 registros realizados a partir de 2010. Esse dado é alarmante pela gravidade das lesões causadas por *D. renale*, como já citado anteriormente, e também pelo fato de a doença ser desconhecida pela população em geral. Nesse sentido, os animais infectados por *D. renale* podem servir de sentinelas para a população humana, uma vez que esta está exposta aos mesmos fatores de risco (KANO et al., 2003). Portanto, conclui-se que esse trabalho apresenta relevância tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública da população da região Sul do RS, uma vez que se destaca por revelar a maior casuística mundial de dioctofimose em cães, sendo Pelotas a cidade com maior taxa de infecção nesses animais.

Referências

AGRAWAL, R.; KUMAR, P.; MISHRA, P.P.; GUPTA, R.; PREMI, H.K. *Dioctophyma renale*: a chance finding on bladder catheterisation of a pregnant female. **Indian Journal of Medical Case Reports**, v.3, n. 1, p.70-72, 2014.

ANJOS, F.S.; NIEDERLE, P.A.; CALDAS, N.V. Pluriatividade e pesca artesanal: o caso da Colônia Z-3 em Pelotas, RS. **Sociedade em debate**, Pelotas, v.10, n.3, p.9-42, 2004.

BACH, F.S.; KLAUMANN, P.R.; FERREIRA, F.M. Paraparesis secondary to erratic migration of *Dioctophyma renale* in a dog. **Ciência Rural**, v.46, n.5, p.885-888, 2016.

CAMARGO, M.C.; ARRUDA, P.M.; PARIZOTTO, L.H.; GALINDO, C.M.; MATTEI, V.; GRANEMANN, M.C. Localizações ectópicas de *Dioctophyma renale* em cães, gatos e quatis em Santa Catarina. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.3, p.655-656, 2013.

CAPELLA, G.A.; RAPPETI, J.C.S.; PINHEIRO, N.B.; PERERA, S.C.; DE MOURA, M.Q.; CLEFF, M.B.; DA COSTA, C.M.; STROTHMANN, A.L.; WEEGE, G.B.; MASCARENHAS, C.S.; BERNE, M.E.A. An evaluation of techniques to diagnose

Diectophyme renale in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.46, e006423, 2024.

CAYE, P.; MILECH, V.; LIMA, C.S.; BRAGA, F.V.A.; DURANTE, L.H.; RAPPETI, J.C.S. *Diectophyme renale* na musculatura abdominal de um cão – relato de caso. **XIV Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (CONPAVEPA)**, São Paulo, 2015.

CORADI, P.C.; FIA, R.; RAMIREZ, O.P. Avaliação da qualidade da água superficial dos cursos de água do município de Pelotas-RS, Brasil. **Revista Ambiente e Água**, v.4, n.2, p.46-56, 2009.

COTTAR, B.H.; DITTRICH, G.; FERREIRA, A.A.; CARVALHO, A.C.P.; ALBERNAZ, V.G.P.; LUZ, M.T.; TASQUETI, U.I. Achados ultrassonográficos de cães parasitados por *Diectophyma renale* – estudo retrospectivo. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, p.8-11, 2012.

ECHENIQUE, J.V.Z.; SOARES, M.P.; MASCARENHAS, C.S.; BANDARRA, P.M.; QUADROS, P.; DRIEMEIER, D.; SCHILD, A.L. *Lontra longicaudis* infected with canine parvovirus and parasitized by *Diectophyma renale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1844-1848, 2018.

EICKE, B.; ZANETTI, K.; REGINALDO, A.S.; SILVA, J.; SILVA, D.K.M.; SANTOS, G.A.; LOPES, B.A.; BRAZ, P.H. *Diectophyma renale* in a patient living in Mato Grosso do Sul. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.4, p.282-285, 2014.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Resumos mensais. 2018. Disponível em: <http://agromet.cpact.embrapa.br/online/Resumos_Mensais.htm> Acesso em: 25 fev. 2018.

FERREIRA, V.L.; MEDEIROS, F.P.; JULY, J.R.; RASO, T.F. *Diectophyma renale* in a dog: clinical diagnosis and surgical treatment. **Veterinary Parasitology**, n.168, p.151-155, 2010.

HALLAL, M.O.C.; SCHÖFFEL, E.R.; BRIXNER, G.F.; RADÜNZ, A.L. Estimativa da evapotranspiração de referência e sua relação com a precipitação ocorrida na região de Pelotas – RS. **Irriga**, v.18, n.1, p.85-98, 2013.

HERNÁNDEZ-RUSSO, Z.H.; RIZZARDINI, E.S.; NUÑEZ, C.S.; MONTE, F.N.N. *Diectophyma renale* en caninos (*Canis familiaris*) de Uruguay. **Neotropical Helminthology**, v.8, n.1, p.123-130, 2014.

KANO, F.S.; SHIMADA, M.T.; SUZUKI, S.N.; OSAKI, S.C.; MENARIM, B.C.; RUTHES, F.R.V.; LAIDANE FILHO, M.A. Ocorrência de dioctofimose em dois cães no município de Guarapuava – PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.24, n.1, p.177-180, 2003.

KOMMERS, G.D.; ILHA, M.R.S.; BARROS, C.S.L. Dioctofimose em cães: 16 casos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.517-522, 1999.

LI, G.; LIU, C.; LI, F.; ZHOU, M.; LIU, X.; NIU, Y. Fatal bilateral dioctophymatosis. **Journal of Parasitology**, v.96, n.6, p.1152-1154, 2010.

LIMA, C.S.; MURAKAMI, V.; NAKASU, C.C.T.; MILECH, V.; DURANTE, L.H.; PERERA, S.C.; CLEFF, M.B.; RAPPETI, J.C.S.; CRIVELLENTI, L.Z. *Diectophyme renale* o verme gigante do rim: revisão de literatura. **Revista Investigação Medicina Veterinária**, v. 15, n. 4, p. 37-41, 2016.

LISBOA, A. Estrongilose renale humana. **Brasil-Médico**, p. 23-24, 1945.

LUZ, M.T.; ALBERNAZ, V.G.P.; LUCINA, S.B.; FREITAG, F.A.G.; TASQUETI, U.I. Hidronefrose associada à infecção por *Diectophyma renale* em um cão – relato de caso. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.12, Supl.1, p.44-45, 2014.

MACE, T.F.; ANDERSON, R.C. Development of the giant kidney worm, *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Dioctophymatoidea). **Canadian Journal of Zoology**, v. 53, p. 1552-1568, 1975.

MASCARENHAS, C.S.; HENZEL, A.B.D.; CORRÊA, F.; ROBALDO, R.B.; MÜLLER, G. Third-stage larvae of *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in (Hancock, 1828) (Siluriformes: Callichthyidae) from Southern Brazil. **Neotropical Helminthology**, v.10, n.1, p.135-138, 2016.

MASCARENHAS, C.S.; HENZEL, A.B.; MÜLLER, G. Larvae of *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) and *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in freshwater turtles (Testudines: Chelidae) from Southern Brazil. **Neotropical Helminthology**, v.11, n.1, p.61-67, 2017.

MASCARENHAS, C.S.; MÜLLER, G.; MACEDO, M.R.P.; HENZEL, A.B.D.; ROBALDI, R.B.; CORRÊA, F. The role of freshwater fish in the life cycle of *Diectophyme renale* in Southern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.16, 2019.

MASCARENHAS, C.S.; MÜLLER, G. Third-stage larvae of the enoplid nematode *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) in the freshwater turtle *Trachemys dorbigni* from southern Brazil. **Journal os Helminthology**, p.1-6, 2014.

MASCARENHAS, C.S.; PEREIRA, J.V.; MÜLLER, G. Occurrence of *Diectophyme renale* larvae (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in a new host from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.27, n.4, p.609-613, 2018.

MESQUITA, L.R.; RAHAL, S.C.; FARIA, L.G.; TAKAHIRA, R.K.; ROCHA, N.S.; MAMPRIM, M.J.; OLIVEIRA, H.S. Pre- and post-operative evaluations of eight dogs following right nephrectomy due to *Diectophyme renale*. **Veterinary Quartely**, p.1-5, 2014.

MEYER, S.N.; ROSSO, M.; MAZA, Y.E. Hallazgo de *Diectophyme renale* em la cavidad torácica de un canino. **Revista Veterinaria**, v.24, n.1, p.63-65, 2013.

PARAS, K.L.; MILLER, L.; VEROCAI, G. Ectopic infection by *Diectophyme renale* in a dog from Georgia, USA, and a review of cases of ectopic diectophymosis in companion

animals in the Americas. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.14, p.111-116, 2018.

PARK, H.Y.; SEO, J.W.; LEE, B.H.; LEE, J.Y.; KIM, S.Y.; CHA, S.J.; KIM, Y.H.; HWANG, Y.J.; KIM, Y.S. Simultaneous occurrence of malignant fibrous histiocytoma of the ureter and *Diectophyma renale* infection: a case report. **Journal of the Korean Society of Radiology**, v.68, n.5, p.411-415, 2013.

PEDRASSANI, D.; HOPPE, E.G.L.; AVANCINI, N.; NASCIMENTO, A.A. Morphology of eggs of *Diectophyma renale* Goeze, 1782 (Nematoda: Diectophymatidae) and influences of temperature on development of first-stage larvae in the eggs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 15-19, 2009a.

PEDRASSANI, D.; HOPPE, E.G.L.; TEBALTI, J.H. NASCIMENTO, A.A. *Chaunus ictericus* (Spix, 1824) as paratenic host of the giant kidney worm *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in São Cristóvão district, Três Barras county, Santa Catarina state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.74-77, 2009b.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. *Diectophyme renale*: prevalence and risk factors of parasitism in dogs of São Cristóvão district, Três Barras county, Santa Catarina State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.39-46, 2017.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. Improvement of an enzyme immunosorbent assay for detecting antibodies against *Diectophyma renale*. **Veterinary Parasitology**, v.212, p.435-438, 2015.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A. Verme gigante renal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, p.30-37, 2015.

PEREIRA, B.J.; GIRARDELLI, G.L.; TRIVILIN, L.O.; LIMA, V.R.; NUNES, L.C.; MARTINS, I.V.F. Ocorrência de dioctofimose em cães do município de Cachoeiro do

Itapemirim, Espírito Santo, Brasil, no período de maio a dezembro de 2014. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.123-125, 2006.

PERERA, S.C.; CAPELLA, G.A.; PINTO, N.B.; RAPPETI, J.C.S.; MÜLLER, G.; AZAMBUJA, R.H.M.; GIORDANI, C.; CLEFF, M.B. First isolation of *Diectophyme renale* eggs from an urban environment and identification of those from animal urine. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.89-91, 2017b.

PERERA, S.C.; RAPPETI, J.C.S.; MILECH, V.; BRAGA, F.A.; CAVALCANTI, G.O.; NAKASU, C.C.; DURANTE, L.; VIVES, P.; CLEFF, M.B. Eliminação de *Diectophyme renale* pela urina em canino com diectofimatoze em rim esquerdo e cavidade abdominal – Primeiro relato no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.3, p.618-622, 2017a.

PESENTI, T.C.; MASCARENHAS, C.S.; KRÜGERL, C.; SINKOC, A.L.; ALBANO, A.P.N.; COIMBRA, M.A.A.; MÜLLER, G. *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) Collet-Meygret, 1802 (Diectophymatidae) in *Galictis cuja* (Molina, 1782) (Mustelidae) in Rio Grande do Sul, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 6, n. 2, p. 301-305, 2012.

RADMAN, N.E.; GAMBOA, M.I.; BUTTI, M.J.; BLANCO, M.; RUBE, A.; TERMINIELLO, J.; OSEN, B.A.; BURGOS, L.; CORBALÁN, V.; PALADINI, A.; ACOSTA, R.M.; EUGUI, J.I.R.; BORRELLI, S.; BRUSA, M.; MARTINO, P. Occurrence of diectophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.10, p.43-50, 2017.

RAHAL, S.C.; MAMPRIM, M.J.; OLIVEIRA, H.J.; MESQUITA, L.R.; FARIA, L.G.; TAKAHIRA, R.K.; MATSUBARA, L.M.; AGOSTINHO, F.S. Ultrasonographic, computed tomographic, and operative findings in dogs infested with giant kidney worms (*Diectophyma renale*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.244, n.5, p.555-558, 2014.

RAPPETI, J.C.S.; MASCARENHAS, C.S.; S.C.; MÜLLER, G.; GRECCO, F.B.; SILVA, L.M.S.; SAPIN, C.F.; RAUSCH, S.F.; CLEFF, M.B. *Diectophyme renale*

(Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.119-121, 2017.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; CORRÊA, L.G.; RAPPETI, J.C.S.; DURANTE, L.C.; PERERA, S.C.; CLEFF, M.B.; GRECCO, F.B. Dioctofimatoze renal bilateral e disseminada em cão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.12, p.1499-1504, 2017b.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; PIOVESAN, A.D.; FERNANDES, C.G.; RAPPETI, J.C.S.; BRAGA, F.V.A.; CAVALCANTE, G.A.; ROSENTHAL, B.M.; GRECCO, F.B. Estudo Anatomopatológico de rins parasitados por *Dioctophyme renale* em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, Pun. 1441, p. 1-7, 2017a.

SILVEIRA, C.S.; DIEFENBACH, A.; MISTIERI, M.L.; MACHADO, I.R.L.; ANJOS, B.L. *Dioctophyma renale* em 28 cães: aspectos clinicopatológicos e ultrassonográficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.11, p.899-905, 2015.

STAINKI, D.R.; PEDROZO, J.C.S.R.; GASPAR, L.F.J.; ZANETTE, R.A.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Urethral obstruction by *Dioctophyma renale* in puppy. **Comparative Clinical Pathology**, v.20, p.535-537, 2011.

TOKIWA, T.; UEDA, W.; TAKATSUKA, S.; OKAWA, K.; ONODERA, M.; OHTA, N.; AKAO, N. The first genetically confirmed case of *Dioctophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatida) in a patient with a subcutaneous nodule. **Parasitology International**, v.63, p.143-147, 2014.

TRINDADE, M.A.C.; MACEDO, M.R.P.; MULLER, G. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatidae) in *Leopardus geoffroyi* (Carnivora: Felidae) in the Neotropical region. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.27, n.2, p.223-225, 2018.

TRINDADE, M.A.C.; PORTELA, P.R.; MASCARENHAS, C.S.; MACEDO, M.R.P.; MULLER, G. Larvas de *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) em *Procyon cancrivorus* (Cuvier, 1798) (Carnivora: Procyonidae) no sul do Brasil. **Anais do XXI Encontro de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2019.

VEIGA, C.C.P.; OLIVEIRA, P.C.; FERREIRA, A.M.R.; AZEVEDO, F.D.; VIEIRA, S.L.; PAIVA, M.G.A. Dioctofimose em útero gravídico em cão – Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 3, p. 188-191, 2012.

VIEIRA, Everton. **Proposta de zoneamento ambiental para o município de Capão do Leão – RS**. 2004. 87 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Centro de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

VIEIRA, F.M.; MUNIZ-PEREIRA, L.C.; SOUZA-LIMA, S.; ROCHA, B.M.; LUQUE, J.L. Parasitic nematodes of three species of wild carnivore mammals from Atlantic forest in the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 88, p. 801-806, 2017.

YANG, F.; ZHANG, W.; GONG, B.; YAO, L.; LIU, A.; LING, H. A human case of *Dioctophyma renale* (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of dioctophymiasis. **Parasite**, v.26, n.22, p.1-8, 2019.

3.2 Artigo 2

Novos registros de diroctofimose em gatos domésticos (*Felis catus*) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Soliane Carra Perera, Carolina Silveira Mascarenhas, Gertrud Müller Antunes,
Josaine Cristina da Silva Rappeti, Marlete Brum Cleff

Será submetido à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

New records of dioctophimosis in domestic cats (*Felis catus*) in Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

Notificação de dioctofimose em gatos domésticos (*Felis catus*) em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Dioctophimosis in domestic cats in Pelotas

Abstract

Dioctophyme renale is a cosmopolitan and zoonotic nematode capable of parasitizing the kidney of man and of several species of animals, including dogs and cats. Currently, records of dioctophimosis in felines are considered scarce and, therefore, the objective of the present study was to verify new occurrences of dioctophimosis in domestic cats in Pelotas. Data were collected (breed, sex, age and condition of life, site of infection, clinical signs and form of diagnosis) of cats with dioctophimosis diagnosed in veterinary care centers in Pelotas and Capão do Leão. We found nine cases of parasitosis in cats, with eight diagnoses made since 2010. All patients were mixed breed and the majority female (n=7), with emphasis on young adult animals with two and three years of life. The diagnosis was made mainly with abdominal ultrasound examination, in addition to analysis of urine and abdominal fluid with identification of helminth eggs. The infection sites were the kidneys and the abdominal cavity, with the right kidney standing out in five cases. The clinical signs were hematuria, weight loss, peritonitis, vomiting, diarrhea and abdominal pain. In addition, four cats had access to the street, three of which were adopted and one semi-domiciled when diagnosed. In Brazil, there are a total of 15 cases of dioctophimosis in domestic cats. In addition to Brazil, only Argentina (n=1) and Iraq (n=5) registered cases of the disease in felines, totaling 21 cases worldwide. Thus, it was possible to conclude that the municipality of Pelotas has the largest number of dioctophimosis in domestic cats, totaling nine cases so far.

Keywords: *Dioctophyme renale*, felines, dioctophimosis, *Felis catus*, domestic cats.

Resumo

Dioctophyme renale é um nematódeo cosmopolital de mamíferos com potencial zoonótico, entre eles os cães e os gatos. Atualmente, os registros de dioctofimose em

felinos são considerados escassos e, por isso, o objetivo do presente estudo foi verificar novas ocorrências de dioctofimose em gatos domésticos em Pelotas. Foram coletados dados (raça, sexo, idade e condição de vida, sítio de infecção, sinais clínicos e forma de diagnóstico) de gatos com dioctofimose diagnosticados em centros de atendimento veterinário de Pelotas e Capão do Leão. Constatou-se nove casos da parasitose em gatos, sendo oito diagnósticos realizados a partir de 2010. Todos os pacientes eram sem raça definida e a maioria fêmea (n=7), destacando-se animais adultos jovens com dois e três anos de vida. O diagnóstico foi feito principalmente com exame de ultrassom abdominal, além de análise de urina e de líquido abdominal com identificação de ovos do helminto. Os sítios de infecção foram os rins e a cavidade abdominal, destacando-se o rim direito em cinco casos. Os sinais clínicos foram de hematúria, emagrecimento, peritonite, vômito, diarreia e dor abdominal. Ainda, quatro gatos apresentaram acesso à rua, sendo três adotados e um semidomiciliado quando diagnosticado. No Brasil, somam-se no total 15 casos de dioctofimose em gatos domésticos. Além do Brasil, apenas Argentina (n=1) e Iraque (n=5) registraram casos da enfermidade em felinos, totalizando 21 casos no mundo. Dessa forma, foi possível concluir que o município de Pelotas apresenta a maior casuística de dioctofimose em gatos domésticos, totalizando nove casos até o momento.

Palavras-chave: *Dioctophyme renale*, felinos, dioctofimose, *Felis catus*, gatos domésticos.

Introdução

Dioctophyme renale é um nematódeo cosmopolita e zoonótico capaz de parasitar diversas espécies de animais domésticos e silvestres (RAPPETI et al., 2017; TRINDADE et al., 2018; YANG et al., 2019). O órgão de eleição desse helminto é principalmente o rim direito dos hospedeiros definitivos, causando a destruição do parênquima renal (SAPIN et al. 2017). Animais e pessoas geralmente não apresentam sinais clínicos ou, quando presentes, estes são inespecíficos relacionados ao sistema urinário (CHAUHAN et al., 2016; RADMAN et al., 2017). O diagnóstico é obtido a partir da visualização de ovos na urina e pela identificação dos helmintos no exame de ultrassom dos hospedeiros definitivos (PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017). Por ser uma zoonose pouco conhecida, pode ser dificilmente diagnosticada em humanos e outras espécies (LI et al., 2010).

Entre animais domésticos, o número de casos tem sido maior em cães em diversos países (VAFAE ESLAHI et al., 2017; PARAS et al., 2018), embora a doença também tenha sido registrada em animais silvestres (HAJIALILO et al., 2015; ECHENIQUE et al., 2018; TRINDADE et al., 2018). Nesse sentido, o extremo Sul do Rio Grande do Sul (RS) tem se destacado como área de alta ocorrência da dioctofimose em cães (RAPPETI et al., 2017), sendo que em felinos domésticos tem-se o conhecimento de apenas três relatos (PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017; SILVA et al., 2017). Assim, o objetivo do trabalho foi relatar a ocorrência de novos casos de dioctofimose em gatos domésticos na cidade de Pelotas, RS, Brasil evidenciando as características da enfermidade na espécie.

Materiais e Métodos

Registros de casos de gatos domésticos com dioctofimose foram analisados a partir dos atendimentos realizados por médicos veterinários de clínicas veterinárias, de centros de diagnóstico por imagem veterinários de Pelotas e do Hospital de Clínicas Veterinária (HCV) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) do Capão do Leão. Foram obtidas informações dos animais referentes à raça, sexo, idade e condição de vida, assim como sítio de infecção do helminto, sinais clínicos e diagnóstico da parasitose.

Resultados

A partir do inquérito realizado, foram detectados nove casos de dioctofimose em gatos na cidade de Pelotas, RS, Brasil, sendo cinco diagnosticados em clínicas veterinárias particulares da cidade, três nos centros de diagnóstico por imagem veterinário, e um do HCV-UFPel. A maioria dos casos foi detectada nos últimos 10 anos, sendo eles em 1998 (n=1), 2010 (n=2), 2012 (n=2), 2014 (n=1), 2016 (n=1), 2018 (n=1) e 2019 (n=1). Todos os felinos domésticos com dioctofimose eram sem raça definida (SRD) e, em sua maioria, fêmeas (n=7). Ademais, em sete felinos identificou-se a faixa etária sendo que cinco animais eram adultos jovens no momento do diagnóstico (três com 1 ano de vida e dois com dois anos).

Com relação aos métodos de diagnóstico, três fêmeas foram por meio de achado cirúrgico durante ovariectomia, quatro apenas por exame de ultrassom abdominal; um por ultrassom abdominal e urinálise; e um por ultrassom abdominal, urinálise e efusão

do líquido abdominal com identificação de ovos de *D. renale* nos dois últimos exames. Quanto ao local de infecção do helminto, predominaram sítios únicos no rim direito (n=3) e na cavidade abdominal (n=4). Entretanto, houve infecção mista em dois felinos, sendo elas em rim direito e cavidade abdominal (n=1), e rim direito e porção perirenal do rim esquerdo (n=1). Quanto ao número de parasitos, observou-se que três felinos tinham apenas a cavidade abdominal parasitada com um helminto e outro felino por dois helmintos. Ainda, a paciente parasitada no rim direito e na cavidade abdominal apresentou 42 helmintos ao todo; enquanto que o outro felino apresentou dois helmintos no rim direito e um helminto na região perirenal do rim esquerdo, totalizando três parasitos. Não foi informada a quantidade de nematódeos dos gatos que tinham apenas o rim direito parasitado, uma vez que esses registros foram fornecidos por médicos veterinários dos centros de diagnóstico por imagem.

Com relação aos sinais clínicos, tem-se a informação apenas de cinco animais deste inquérito, sendo que dois deles foram assintomáticos, e três apresentaram sinais inespecíficos e alterações clínicas, como hematúria, emagrecimento, peritonite acentuada, vômito, diarreia e elevada dor à palpação abdominal. Além disso, um dos gatos desse inquérito que também foi relatado por Silva et al. (2017) apresentou obstrução uretral, bexiga repleta e ausência de micção.

Com relação à condição de vida dos gatos desse estudo, três deles foram adotados, sendo que apresentavam vida semidomiciliada (n=2) e domiciliada (n=1) após a adoção. Um gato sempre apresentou vida semidomiciliada, e outros dois não se sabe a condição de vida anterior, mas era semidomiciliada quando diagnosticado. A condição de vida de três gatos registrados nas clínicas veterinárias de Pelotas não foi informada.

Todos os felinos desse estudo residiam na cidade de Pelotas, RS, sendo que cinco deles foi informado o bairro específico: Centro, Porto, Barro Duro, Santa Terezinha e Jardim Europa. Não se sabe a origem deste último, mas os demais felinos eram procedentes dos mesmos bairros quem que residiam quando diagnosticados. A única exceção era o gato que residia no bairro Porto uma vez que ele havia sido recolhido das ruas do Centro da cidade.

Discussão

A dioctofimose é uma zoonose que tem sido relatada em diversas espécies de animais em todo o mundo, destacando-se o Brasil e a Argentina com maior casuística em cães domésticos (PEDRASSANI et al., 2017; RADMAN et al., 2017; RAPPETI e al.,

2017). Os registros da parasitose em gatos domésticos são escassos, ocorrendo apenas na América do Sul (Brasil e Argentina) (VEROCAI et al., 2009; SILVA et al., 2017; BUTTI et al., 2019) e no Iraque (AL-OBAIDI, 2012).

No Brasil, há nove registros da doença em felinos nos estados do Mato Grosso do Sul (MS) (n=1), Rio de Janeiro (RJ) (n=1), Santa Catarina (SC) (n=3) e Rio Grande do Sul (RS) (n=4) (VEROCAI et al., 2009; CAMARGO et al., 2013; FRANCO et al., 2013; PEDRASSANI et al., 2014; PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017; SILVA et al., 2017). No presente estudo, foram também observados nove casos de dioctofimose em felinos, sendo que três deles já foram citados em outros trabalhos (RAPPETI et al., 2017; SILVA et al., 2017). Dessa forma, somando-se os casos já registrados com os casos do presente inquérito ainda não divulgados e nenhum outro estudo (n=6), observa-se que 15 gatos domésticos foram diagnosticados com dioctofimose no Brasil. Na Argentina e no Iraque, foram diagnosticados um e cinco gatos com a parasitose, respectivamente (AL-OBAIDI, 2012; BUTTI et al., 2019). Somando os casos no Brasil e os casos relatados em nestes outros países, totalizam-se 21 casos de dioctofimose em gatos encontrados na literatura científica.

De acordo com o inquérito, observou-se que os gatos parasitados com dioctofimose eram todos sem raça definida (SRD). Além disso, cinco deles tiveram acesso à rua por serem semidomiciliados e/ou adotados. Assim como ocorre com os cães (PEDRASSANI et al., 2017; RAPPETI et al., 2017), o livre acesso à rua torna os gatos mais suscetíveis à infecção por terem maior contato com os hospedeiros intermediário e paratênicos infectados com a larva infectante de *D. renale* (VEROCAI et al., 2009; HERNÁNDEZ-RUSSO et al., 2014). Da mesma forma, esse dado corrobora com outros estudos em que a parasitose foi diagnosticada em gatos errantes e adotados previamente ao diagnóstico (VEROCAI et al., 2009; AL-OBAIDI, 2012; PEDRASSANI et al., 2014; SILVA et al., 2017).

Embora a condição de vida entre cães e gatos parasitados seja semelhante, a quantidade de registros de dioctofimose em felinos é consideravelmente menor do que em caninos. Isto pode acontecer devido ao comportamento do gato relacionado a sua preferência pelo consumo de água límpida e corrente, sendo improvável a presença do hospedeiro intermediário infectado com a larva L3 de *D. renale*. Dessa forma, torna-se menor o risco de infecção para os gatos.

Apesar disso, acredita-se que podem haver mais casos não diagnosticados na espécie felina, principalmente na região de estudo desse inquérito pelo fato de muitas

vezes os animais permanecerem assintomáticos para a doença, podendo ir à óbito antes da realização do diagnóstico e do tratamento (SILVEIRA et al., 2015). Além disso, quando presentes, os sinais clínicos são inespecíficos e relacionados ao sítio de infecção, como hematúria devido às lesões provocadas pelos helmintos no rim (FARIA et al., 2017), assim como peritonite devido à presença dos nematódeos na cavidade abdominal (VEROCAI et al., 2009). Em infecções mais severas e com maior número de parasitos, pode ser observada também anemia (PERERA et al., 2017b).

No presente estudo, cinco animais apresentaram baixo parasitismo (até três helmintos por gato), enquanto que um paciente apresentou uma taxa elevada de infecção com 42 helmintos na cavidade abdominal e no rim direito, destacando-se com o maior número de parasitos em um único gato. Outros registros de elevado nível de infecção foram feitos em cães, sendo observados 42 e 34 exemplares do nematódeo no rim direito e na cavidade abdominal desses animais (KARMANOVA (1968) citado por MEASURES, 2001; MONTEIRO et al., 2002). Vale salientar que a paciente deste inquérito era uma gata fêmea jovem de apenas um ano de idade que havia sido recolhida da rua, local com elevado potencial hídrico de Pelotas, sendo esse um dos possíveis fatores para a ocorrência da parasitose nesse município, segundo Rappeti et al. (2017). Ainda, cabe ressaltar que se desconhece o número de helmintos em três animais desse estudo, pois os mesmos foram diagnosticados apenas por exame de ultrassom, o qual é eficaz para detectar parasitos em diferentes sítios de infecção, porém não para quantificá-los (RAHAL et al., 2014). Nos demais casos, os helmintos foram quantificados após serem removidos cirurgicamente pelos médicos veterinários das clínicas veterinárias particulares e do HCV-UFPel.

A dioctofimose é mais frequentemente diagnosticada em cães adultos acima de um ano e meio de vida (PEDRASSANI et al., 2017). Em felinos, no entanto, ainda não se foi esclarecida a faixa etária de maior ocorrência devido ao escasso número de relatos, mas foi observado que aproximadamente dois terços dos animais (n=6) do presente estudo eram adultos jovens com um a quatro anos de vida. Entre eles, gatos com um ano de vida foram também registrados (n=3), salientando que a infecção pode ocorrer também desde a fase inicial de vida.

A partir desse estudo, evidencia-se a importância da investigação da dioctofimose nos felinos, especialmente em áreas com registros da helmintose em outras espécies, uma vez que os relatos em gatos domésticos são escassos e até mesmo ausentes. Acredita-se que o número de gatos parasitados seja maior do que o documentado no Brasil e em outros

países. Assim, a ocorrência da dioctofimose em felinos domésticos em Pelotas serve de alerta para a importância de realização de exames diagnósticos, como urinálise e ultrassom, em animais dessa cidade e municípios próximos que apresentam as mesmas condições geográficas e climáticas favoráveis para o desenvolvimento do ciclo de *D. renale*. O estudo reforça a importância do extremo Sul do RS como local de ocorrência da parasitose, salientando a necessidade de cuidados relacionados à saúde pública, uma vez que a dioctofimose é uma zoonose, sendo a população em situação de vulnerabilidade social e em condições sanitárias precárias a mais suscetível devido às formas de infecção. Por fim, a partir de estudos publicados anteriormente por nosso grupo de pesquisa (PERERA et al., 2017a; RAPPETI et al., 2017), associados aos dados obtidos neste trabalho, conclui-se que Pelotas, RS, apresenta o maior número de registros de dioctofimose em gatos domésticos, totalizando nove casos apenas nessa cidade.

Agradecimentos

Agradecemos à parceria do Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas e das clínicas veterinárias e centros de diagnóstico por imagem veterinário de Pelotas e Capão do Leão, RS, Brasil, para o desenvolvimento dessa pesquisa. O presente trabalho também foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento COCEPE 8108.

Referências Bibliográficas

AL-OBAIDI, Q.T. Prevalence of internal helminthes in stray cats (*Felis catus*) in Mosul City, Mosul-Iraq. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 11, n. 15, p. 2732-2736, 2012.

BUTTI, M.J.; GAMBOA, M.I.; TERMINIELLO, J.D.; FRANCHINI, G.R.; GIORELLO, A.N.; MALDONADO, L.L.; KAMENETZKY, L.; LUNA, M.F.; LOPEZ MERLO, M. RADMAN, N.E. *Dioctophyme renale* in a domestic cat (*Felis catus*): renal location and nephrectomy. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 18, p. 1-5, 2019.

CAMARGO, M.C.; ARRUDA, P.M.; PARIZOTTO, L.H.; GALINDO, C.M.; MATTEI, V.; GRANEMANN, M.C. Localizações ectópicas de *Dioctophyma renale* em cães, gatos e quatis em Santa Catarina. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, Supl. 2, p. 655-656, 2013.

CHAUHAN, S.; KAVAL, S.; TEWARI, S. Dioctophymiasis: a rare case report. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 2, p. 1-2, 2016.

ECHENIQUE, J.V.Z.; SOARES, M.P.; MASCARENHAS, C.S.; BANDARRA, P.M.; QUADROS, P.; DRIEMEIER, D.; SCHILD, A.L. *Lontra longicaudis* infected with canine parvovirus and parasitized by *Dioctophyma renale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1844-1848, 2018.

FARIA, B.M.; PEREIRA, K.F.; LEÃO, A.P.; PONTES, N.S.; GÓES, D.C.C.; GUIMARÃES, C.D.O.; PEREIRA, K.F.; AMORIM, B.S.; COUTINHO, L.N. Diagnosis of *Dioctophyma renale* using ultrasonography and microscopy – A case report. **Veterinária em Foco**, v. 14, n. 2, p. 48-53, 2017.

FRANCO, P.A.; ANDRADE, A.L.S.; ALÉSSIO, B.C.; LOUBET, S.; MARTINS, A.M.Q. Infecção extrarenal de *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) em gato de Campo Grande, Mato Grosso do Sul – Relato de caso. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, Supl. 1, p. 275-277, 2013.

HAJIALILO, E.; MOBEDI, I.; MASOUD, J.; HASANPOUR, H.; MOWLAVI, G. *Dioctophyme renale* in *Vulpes vulpes* from the Caspian Sea littoral of Iran. **Iranian Journal of Public Health**, v. 44, n. 5, p. 698-700, 2015.

HERNÁNDEZ-RUSSO, Z.H.; RIZZARDINI, E.S.; NUÑEZ, C.S.; MONTE, F.N.N. *Dioctophyma renale* en caninos (*Canis familiaris*) de Uruguay. **Neotropical Helminthology**, v. 8, n. 1, p. 123-130, 2014.

LI, G.; LIU, C.; LI, F.; ZHOU, M.; LIU, X.; NIU, Y. Fatal bilateral dioctophymatosis. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 6, p. 1152-1154, 2010.

MEASURES, Lena N. **Dioctophymatosis**. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2^a ed. Iowa: Iowa State University Press, 2001. p. 357-364.

MONTEIRO, S.G.; SALLIS, E.S.V.; STAINKI, D.R. Infecção natural por trinta e quatro helmintos da espécie *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) em um cão. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v. 9, n. 1, p. 95-99, 2002.

PARAS, K.L.; MILLER, L.; VEROCAI, G. Ectopic infection by *Dioctophyme renale* in a dog from Georgia, USA, and a review of cases of ectopic dioctophymosis in companion animals in the Americas. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 14, p. 111-116, 2018.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. *Dioctophyme renale*: prevalence and risk factors of parasitism in dogs of São Cristóvão district, Três Barras county, Santa Catarina State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 1, p. 39-46, 2017.

PEDRASSANI, D.; WENDT, H.; RENNAU, A.; PEREIRA, S.T.; WENDT, S.B.T. *Dioctophyma renale* Goeze, 1782 in a cat with a supernumerary kidney. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 109-117, 2014.

PERERA, S.C.; CAPELLA, G.A.; PINTO, N.B.; RAPPETI, J.C.S.; MÜLLER, G.; AZAMBUJA, R.H.M.; GIORDANI, C.; CLEFF, M.B. First isolation of *Dioctophyme renale* eggs from an urban environment and identification of those from animal urine. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 1, p. 89-91, 2017a.

PERERA, S.C.; RAPPETI, J.C.S.; MILECH, V.; BRAGA, F.A.; CAVALCANTI, G.O.; NAKASU, C.C.; DURANTE, L.; VIVES, P.; CLEFF, M.B. Eliminação de *Dioctophyme renale* pela urina em canino com dioctofomatose em rim esquerdo e cavidade abdominal – Primeiro relato no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 69, n. 3, p. 618-622, 2017b.

RADMAN, N.E.; GAMBOA, M.I.; BUTTI, M.J.; BLANCO, M.; RUBE, A.; TERMINIELLO, J.; OSEN, B.A.; BURGOS, L.; CORBALÁN, V.; PALADINI, A.; ACOSTA, R.M.; EUGUI, J.I.R.; BORRELLI, S.; BRUSA, M.; MARTINO, P. Occurrence of dioctophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 10, p. 43-50, 2017.

RAHAL, S.C.; MAMPRIM, M.J.; OLIVEIRA, H.J.; MESQUITA, L.R.; FARIA, L.G.; TAKAHIRA, R.K.; MATSUBARA, L.M.; AGOSTINHO, F.S. Ultrasonographic, computed tomographic, and operative findings in dogs infested with giant kidney worms (*Dioctophyma renale*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 244, n. 5, p. 555-558, 2014.

RAPPETI, J.C.S.; MASCARENHAS, C.S.; S.C.; MÜLLER, G.; GRECCO, F.B.; SILVA, L.M.S.; SAPIN, C.F.; RAUSCH, S.F.; CLEFF, M.B. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 1, p. 119-121, 2017.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; PIOVESAN, A.D.; FERNANDES, C.G.; RAPPETI, J.C.S.; BRAGA, F.V.A.; CAVALCANTE, G.A.; ROSENTHAL, B.M.; GRECCO, F.B. Estudo Anatomopatológico de rins parasitados por *Dioctophyme renale* em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, Pub. 1441, p. 1-7, 2017.

SILVA, C.C.; CAVALCANTI, G.A.O.; BRAGA, F.V.A.; GUIM, T.N.; GOMES, L.G.S.; RAPPETI, J.C.S. *Dioctophyme renale* parasitism in domestic cat in Rio Grande do Sul, Brazil – first reported case. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2215-2220, 2017.

SILVEIRA, C.S.; DIEFENBACH, A.; MISTIERI, M.L.; MACHADO, I.R.L.; ANJOS, B.L. *Dioctophyma renale* em 28 cães: aspectos clinicopatológicos e ultrassonográficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 11, p. 899-905, 2015.

TRINDADE, M.A.C.; MACEDO, M.R.P.; MULLER, G. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatidae) in *Leopardus geoffroyi* (Carnivora: Felidae) in the

Neotropical region. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 223-225, 2018.

VAF AE ESLAHI, A.; KIA, E.B.; MOBEDI, I.; SHARIFDINI, M.; BADRI, M.; MOWLAVI, G. Road killed carnivores illustrate the status of zoonotic helminthes in Caspian Sea littoral of Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 12, n. 2, p. 230-235, 2017.

VEROCAI, G.G.; MEASURES, L.N.; AZEVEDO, F.D.; CORREIA, T.R.; FERNANDES, J.I.; SCOTT, F.B. *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) in the abdominal cavity of a domestic cat from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 342-344, 2009.

YANG, F.; ZHANG, W.; GONG, B.; YAO, L.; LIU, A.; LING, H. A human case of *Diectophyma renale* (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of diectophymiasis. **Parasite**, v. 26, n. 22, p. 1-8, 2019.

3.3 Artigo 3

Detecção e quantificação de ovos de *Diectophyme renale* na urina de cães após nefrectomia

Soliane Carra Perera, Maria Antonieta Machado Pereira, Gabriela de Almeida Capella, Natália Berne Pinheiro, Maria Elisabeth Aires Berne, Josaine Cristina da Silva Rappeti, Fabrício Braga, Marlete Brum Cleff

Aceito para publicação na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

Detection and quantification of *Diectophyme renale* eggs in dog urine after nephrectomy

Detecção e quantificação de ovos de *Diectophyme renale* na urina de cães após nefrectomia

Abstract

Diectophyme renale is a zoonotic nematode that parasitizes mainly right kidney of domestic and wild canines, and can affect humans, and its eggs are eliminated in urine. The duration of egg dissemination after surgical treatment is unknown. Therefore, the objective of this study was to identify, quantify, and verify the duration of the elimination of *D. renale* eggs in dog urine after the surgical removal of nematodes. The study involved 15 dogs in which female specimens of *D. renale* were detected in kidneys. Urine samples, preferably first-morning urine samples, were collected before and for the first ten days after nephrectomy. For egg quantification, 40 µL samples of urinary sediment were analyzed in triplicate. In laboratory analyses, between 900 and > 6,000 eggs/urine sample were detected in 86.7% of the dogs prior to surgery, and in 40% of the dogs on postoperative day 1. Of the 15 dogs evaluated, 14 (93.3%) eliminated *D. renale* eggs on each of the first ten postoperative days. Egg elimination peaked on postoperative day 1. Our results indicate that dogs can continue to be sources of *D. renale* infection even after the helminths have been removed from a parasitized kidney, underscoring the novelty of these findings and their importance for the One Health approach.

Keywords: giant kidney worm, diectophymosis, canids, helminth eggs, environmental contamination.

Resumo

Diectophyme renale é um nematódeo zoonótico que parasita principalmente o rim direito de caninos domésticos e silvestres, podendo parasitar também humanos, sendo seus ovos eliminados pela urina. Se desconhece o período de disseminação de ovos após o tratamento cirúrgico, assim o objetivo desse trabalho foi verificar, quantificar e acompanhar o tempo de eliminação de ovos de *D. renale* na urina de cães após a remoção cirúrgica dos nematódeos. O estudo envolveu 15 cães com parasitismo renal por fêmeas de *D. renale*. Coletou-se amostras de urina antes da cirurgia e durante 10 dias após a

nefrectomia, preconizando-se a primeira urina da manhã. Para a quantificação dos ovos, analisou-se 40 µL do sedimento urinário em triplicata. Nas análises laboratoriais, detectou-se entre 900 e >6000 ovos/amostra de urina em 86,7% dos cães previamente a cirurgia, e em 40% dos cães no primeiro dia após o procedimento. Catorze cães (93,3%) eliminaram ovos de *D. renale* entre o primeiro e o décimo dia após nefrectomia, sendo que o maior pico de eliminação ocorreu no primeiro dia. A partir desses resultados, observou-se que os cães podem eliminar ovos de *D. renale* mesmo após a remoção dos helmintos do rim parasitado, destacando-se o ineditismo e a importância destes achados para a Saúde Única.

Palavras-chave: verme gigante do rim, dioctofimose, canídeos, ovos de helminto, contaminação ambiental.

Diectophyme renale (Nematoda: Enoplida) is a cosmopolitan nematode capable of parasitizing mammals and the majority of reported cases of dioctophymosis occurring in the canine species *Canis lupus* (Eiras et al., 2021). The helminth has zoonotic potential, as evidenced by the fact that cases of dioctophymosis have been reported in humans in various countries, including Brazil (Lisbôa, 1945; Yang et al., 2019). The severity of the parasitism is mainly related to the impairment of renal function, because the nematode compresses and destroys the parenchyma of the affected kidney (Perera et al., 2021). Parasitism can also occur in the abdominal cavity, thoracic cavity, subcutaneous tissue, and other locations (Caye et al., 2024; Eiras et al., 2021; Brunner et al., 2022).

In the South of Rio Grande do Sul, Brazil, it is important to investigate dioctophymosis in animals, given that parasitic forms of *D. renale* have been observed in the environment (Perera et al., 2017a). In that same region, third-stage (infective) larvae of *D. renale* have been detected in possible paratenic hosts (Mascarenhas et al., 2017, 2019), as have its adult forms in domestic and wild animals (Rappeti et al., 2017; Trindade et al., 2018). Therefore, the dissemination of *D. renale* eggs through the urine of parasitized animals perpetuates the life cycle of the helminth (Measures, 2001).

For individuals with renal parasitism, the recommended treatment is nephrotomy or nephrectomy of the affected kidney (Caye et al., 2024; Milech et al., 2022). However, to our knowledge, there have been no studies evaluating whether *D. renale* eggs remain in the urinary tract of parasitized animals after removal of the parasites or for how long the eggs persist there, which is likely because *D. renale* oviposition is quite intense. Knowing

this information can show a general parameter of the dissemination of eggs through urine and, consequently, the level of environmental contamination caused by these eggs. Therefore, the objective of this study was to identify and quantify parasite eggs before and after nephrectomy in the urine of dogs naturally infected with *D. renale*.

A total of 15 domestic dogs with dirofilariosis were selected from among animals under routine veterinary care at the Ceval Outpatient Clinic of the *Hospital de Clínicas Veterinária da Universidade Federal de Pelotas* (HCV-UFPel, Clinical Veterinary Hospital of the Federal University of Pelotas), in the city of Pelotas, located in the Brazilian state of Rio Grande do Sul (31° 46' 34" S, 52° 21' 34" W). The dogs were designated patient P1 to P15. The inclusion criteria were being parasitized by *D. renale* and eliminating its eggs in urine. For egg elimination to occur, the kidney must be parasitized by at least one sexually mature female. Therefore, dogs that were parasitized only by male specimens were excluded, as were those in which *D. renale* was identified only in other anatomical regions.

Prior to surgical treatment to remove nematodes and the parasitized kidney, a urine sample was collected from each animal. After the complementary examinations had been carried out, all of the patients were referred to the HCV-UFPel for the surgical procedure. After nephrectomy, urine samples were collected daily for ten days, starting 24 h after surgery, sampling of the first morning urine being recommended. The samples were obtained through spontaneous voiding and were stored in collection bottles.

Immediately after urine collection, formalin (1:50, formalin:urine) was added as a preservative, and the samples were refrigerated until laboratory analysis. After homogenization of the samples, an average of 14 mL of each sample was processed using the centrifugal sedimentation technique (203 *g* for 5 minutes). The supernatant was then discarded, and the sediment was analyzed under light microscopy at 10× magnification. To quantify eggs, 40 µL of urinary sediment was analyzed in triplicate, the number of eggs being counted in each of the three aliquots and the sum of the three counts being determined. Exact counts of the number of eggs were made in each aliquot, up to a maximum of 2,000 eggs. When the number of eggs exceeded 2,000 eggs/aliquot, exact counting became unfeasible because of overlapping of the eggs. In those cases, the exact number of eggs was not determined and the result was expressed as > 2,000/aliquot.

Of the 15 dogs selected to be part of the study (ten females and five males), all were mixed breed. All of the dogs had a history of access to the outdoors. Because they all had been strays or had been adopted as adults, the exact age was unknown for all but one.

Therefore, in accordance with the age classes described by Creevy et al. (2019), one of the animals was a puppy (6 months of age), 13 were adult dogs, and one was a senior dog. The higher occurrence in adult animals is probably due to nonspecific or absent clinical signs, leading to late diagnosis or accidental findings, as shown in the literature (Radman et al., 2017; Shakarboev et al., 2024).

The data regarding cases of dogs testing positive for dirofilariosis in the region are worrisome, mainly due to the fact that all animals diagnosed with the disease had access to the outdoors prior to diagnosis (Caye et al., 2024). That favors the dissemination of eggs in the environment through animal urine (Perera et al., 2017a; Eslahi et al., 2021), which, under the right conditions, can perpetuate the life cycle of the helminth (Mace & Anderson, 1975). Previous studies have verified that the first-stage larvae of *D. renale* reach their development in water at a temperature from 14 to 30 °C, as well as that the duration required for first-stage larval development decreases as the temperature for egg incubation increases (Mace & Anderson, 1975; Pedrassani et al., 2009). Furthermore, the great thickness of *D. renale* eggshells may contribute to their resistance to the environment. Thus, environmental contamination by *D. renale* eggs becomes an important risk factor for the infection of definitive hosts, especially humans given that *D. renale* is a nematode with zoonotic potential (Eslahi et al., 2021). Because that is to the detriment of the One Health concept, it is essential to raise awareness among the population regarding the severity of dirofilariosis in humans (Yang et al., 2019) and the high prevalence of infection with the parasite in animals (Eiras et al., 2021; Perera et al., 2021).

In all of the *D. renale*-infected animals that were included in the study, the helminths were observed in the right kidney, requiring nephrectomy of the organ, because that is the procedure indicated, especially when there is progressive destruction of the renal parenchyma (Perera et al., 2021; Shakarboev et al., 2024). In three animals, there were also parasites in ectopic locations such as the abdominal and thoracic cavities, from which they were also surgically removed by laparotomy and thoracotomy, respectively (Table 1).

Of the 26 helminths found in right kidneys, 18 were female (1.2 female parasites/dog) and eight were male (0.5 male parasites/dog). As can be seen in Table 1, the kidneys were parasitized exclusively by female specimens in ten (66.7%) of the dogs and by male and female specimens in the same kidney in five (33.3%). The latter condition can result in the formation of fertile eggs (Mace & Anderson, 1975). Given that the elimination of eggs

through urine is necessary for the continuation of the *D. renale* life cycle (Measures, 2001), that finding makes the present study even more relevant, because the eggs present in the urinary tract continue to be eliminated by the animals even after nephrectomy. This serves as a warning that should prompt the creation of prophylactic and control measures for dioctophymosis that take the One Health recommendations into account. An integrated approach can lead to better prophylaxis against infectious agents in the environment (Ojeyinka & Omaghomi, 2024), especially those that cause zoonotic diseases such as dioctophymosis.

Infection by high numbers of *D. renale* specimens has been documented in dogs in the city of Pelotas. In one of these cases, Caye et al. (2020) identified 34 specimens in one dog in the city: seven in the right kidney and 27 in the abdominal cavity. Similarly, Perera et al. (2017b) identified 23 specimens in the abdominal cavity of a dog that had eliminated three of the helminths from its urinary tract prior to surgery. Despite the relevance of reports of high *D. renale* infection in dogs, such reports are uncommon, because *D. renale* parasitism typically involves a smaller quantity of helminths (Brunner et al., 2022). That is in line with the data obtained in the present study, in which the majority (66.7%) of the patients were infected with only one or two specimens.

Because it is a dioecious helminth, the presence of at least one pair of sexually mature *D. renale* individuals in the kidney of the definitive host is essential for the formation of fertile eggs and the continuation of the life cycle, a situation that was observed in 33.3% of the dogs in the present study. In the remaining cases, only mature females were observed in the kidney, which made it possible to identify eggs through urinalysis, although those eggs would not perpetuate the life cycle if they had not been fertilized by male helminths (Measures, 2001). However, there have been reports of parasitism by male *D. renale* specimens in the right kidney and their elimination in urine after having fertilized the females, because the males are smaller and narrower, which facilitates their passage through the urethra (Lisbôa, 1945; Measures, 2001). Therefore, the possibility of fertile eggs in cases of the absence of males during surgical removal of helminths cannot be ruled out. However, to confirm this hypothesis, it would be necessary to determine the embryonic capacity of the expelled eggs.

Dioctophyme renale is capable of producing thousands of eggs per day. Those eggs can also be eliminated by the thousands in the host urine, as observed in the present study. We found that 86.7% of the dogs evaluated eliminated a high number of eggs in their urine prior to nephrectomy ($\geq 1,035$ /urine sample), including those that had only one

female in the kidney (Table 1), which is highly relevant for environmental contamination. The massive dissemination of eggs is likely related to the level of sexual maturity and viability of the female specimens of the helminth, regardless of the presence or absence of a male specimen.

We confirmed that parasitized animals can continue eliminating eggs and contaminating the environment even after surgical treatment, contributing to the continuation of the *D. renale* lifecycle. Another worrisome finding is that there was the high quantity of parasite eggs ($> 2,000/40 \mu\text{L}$ of urinary sediment, total of $> 6,000/\text{urine sample}$) in the urine of seven patients preoperatively and in that of four patients on postoperative day (POD) 1. That demonstrates the high egg-laying capacity of female specimens of *D. renale*, which leads to considerable dissemination of the eggs into the environment when the female reaches sexual maturity. In the present study, 93.3% of the dogs expelled more than 652 eggs in a urine sample on the day before surgery (Table 1). It is likely that the kidney of P2, a dog that eliminated fewer eggs ($n = 98$) before surgery, was parasitized by a less viable *D. renale* female.

Table 1 Quantification of female and male specimens of *Diectophyme renale* observed in the right kidney and at other sites of infection in dogs with diectophymosis, and total number of eggs observed in the urine of dogs parasitized by *Diectophyme renale* in the preoperative period (POP) to the tenth postoperative day (POD 10) after the removal of helminths by nephrectomy.

F: female; M: male; AC: abdominal cavity; TC: thoracic cavity; NC: not collected.

Patient	Parasites in the right kidney	Parasites at other sites	Total	Preoperative period	Postoperative period									
	(n)sex	(n)sex (site)			Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8	Day 9	Day 10
P1	1F	0	1	4,319	768	508	232	16	0	1	0	0	0	NC
P2	1F	0	1	3,532	3	5	1	0	0	0	0	0	0	NC
P3	1F	0	1	652	381	385	251	99	25	59	1	2	0	0
P4	1F / 1M	0	2	98	6	1	0	0	0	0	0	0	0	6
P5	2F	0	2	> 6,000	> 6,000	192	3	2	6	8	11	43	3	2
P6	1F / 1M	0	2	> 6,000	> 6,000	0	0	0	0	0	0	0	0	NC
P7	1F	0	1	1,035	164	0	1	0	0	NC	0	NC	0	0
P8	1F / 2M	0	3	> 6,000	1,419	0	0	NC	0	0	1	0	NC	0
P9	2F	1M (AC)	3	> 6,000	932	24	1	0	0	0	0	0	0	0
P10	2F / 2M	0	4	> 6,000	> 6,000	0	1	1	7	83	3	0	0	0
P11	1F	0	1	> 6,000	0	0	0	0	1	0	0	3	0	5
P12	1F	0	1	1,340	NC	11	0	0	0	0	0	0	0	NC
P13	1F	0	1	> 6,000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
P14	1F / 2M	1F (AC); 1F (TC)	5	3,465	> 6,000	2	NC	NC	0	0	0	0	1	0
P15	1F	4F and 2M (AC)	7	1,041	19	0	1	0	1	1	0	0	0	0
Total	18F / 8M	8AC / 1TC	35	> 57,482	> 27,692	1,128	491	118	40	152	16	48	4	13
Mean	1,2F / 0,5M	0,5AC / 0,06TC		> 3,832	> 1,978	75.20	35.07	9.07	2.66	10.85	1.06	3.42	0.28	1.18

Although the dogs evaluated eliminated a greater number of eggs immediately after surgery (on POD 1) than thereafter, urinary elimination continued until POD 5 in five dogs and until POD 10 in three. According to the daily evaluation of urine samples, the mean number of eggs eliminated was $> 1,978$ on POD 1, compared with only 75 on POD 2 and only 35 on POD 3 (Table 1). From POD 4 onward, the mean number of eggs expelled in the urine of the dogs was considerably lower (9 eggs/urine sample). Although this is the first study reporting the postoperative elimination of *D. renale* eggs, that finding was expected, given that the eggs detected during that period were the product of oviposition by nematodes before they were removed from the kidney. Because of the high numbers of eggs produced by *D. renale* females, some eggs remain lodged in the urinary tract (bladder and urethra) of animals after nephrectomy, subsequently being eliminated into the environment. That is relevant because each fertilized egg can become an infective larva, maintaining the parasite life cycle and triggering dioctophymosis in the definitive hosts that become infected.

In addition, we observed intermittent elimination of eggs in urine; that is, there were days with no egg detection in 53.3% of the patients, in whose urine samples eggs were again detected on subsequent days. We believe that this occurred because the *D. renale* eggs adhered to surfaces within the urinary tract, causing them to be retained and expelled intermittently in the urine. There are reports in the literature stating that the undulated surface of the shell of a *D. renale* egg can function as an attachment point for aquatic plants (Pedrassani et al., 2009). That rugosity is also thought to facilitate the adhesion of the eggs to the mucous membranes in the bladder and urethra of infected animals. It is also possible that the timing of urine collection and the amount of urine expelled influenced the intensity of egg elimination.

It should be borne in mind that the number of *D. renale* eggs eliminated is greater than that recorded in the present study, because only one aliquot of each urine sample was analyzed per patient day. Therefore, it is logical to assume that eggs were present in the rest of each sample and in the urine produced at other times of the day. That alerts us to the need to take precautions during the preoperative and postoperative periods in animals with dioctophymosis, because such animals could contaminate the environment; the fact that no eggs were seen in the urine collected at a given time point does not necessarily mean that elimination did not occur at other times. Therefore, there is a need for new studies to assess how long eggs are still eliminated in the urine so as not to interfere with urinalysis diagnostic tests.

Of the patients monitored, 93.3% eliminated *D. renale* eggs in urine after the surgical procedure, with around 99% of the eggs being eliminated by POD 3 (Figure 1). To our knowledge, that is an unprecedented finding. In fact, the quantification of *D. renale* eggs eliminated in dog urine is also unprecedented, previous studies having mentioned only their presence in urine samples (Perera et al., 2017a), without specifying the number of eggs.

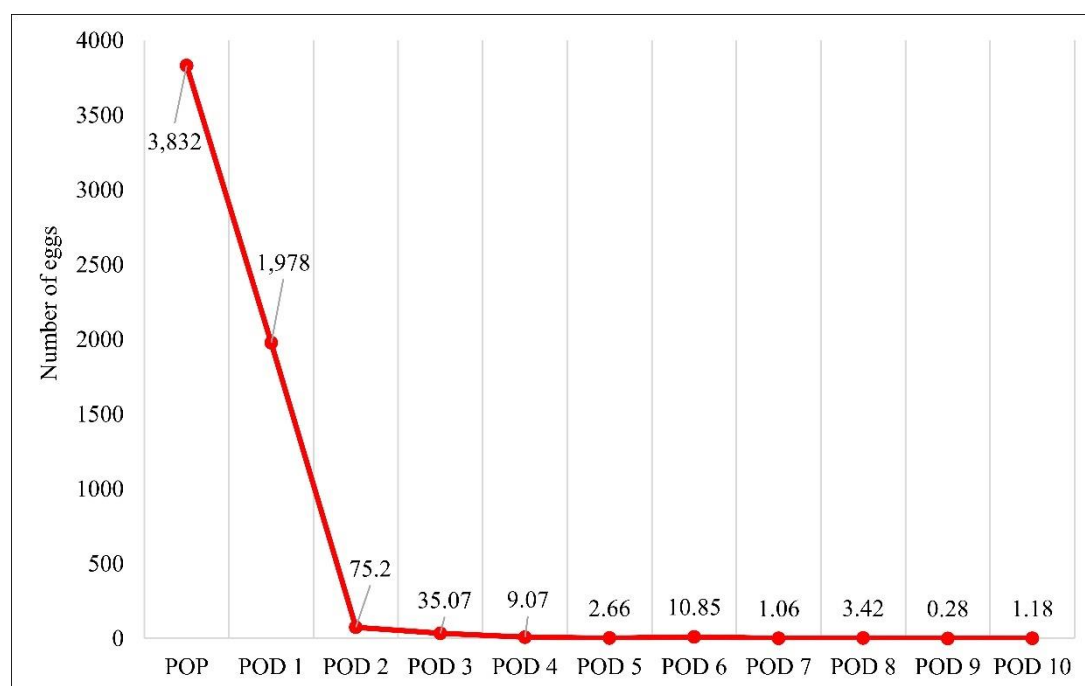


Figure 1. Mean number of *Dioctophyme renale* eggs eliminated in dog urine in the preoperative period (POP) to the tenth postoperative day (POD 10) after the removal of helminths by nephrectomy.

The elimination of *D. renale* egg peaked on the first day after surgical removal of the parasites from the kidney. The quantity of eggs eliminated in urine was considerably lower on POD 2 and POD 3 than on POD 1 (Figure 1). However, as previously mentioned, eggs were counted only in three aliquots of a 14 mL urine sample per day. Given that the physiological urinary production of dogs is 1–2 mL/kg per hour (Borin-Crivellenti & Maia, 2021), the quantities of eggs found on POD 2 and POD 3 are also relevant, because the proportion of eggs disseminated in the environment would be even greater than that. Therefore, it is recommended that such animals be contained during the postoperative period in order to reduce the spread of eggs into the environment. The urine produced by the animals during that period must be disposed of appropriately in order to prevent larval

development. It has been suggested that, prior to its disposal, *D. renale*-infected urine be frozen, dried, or kept at a temperature above 33°C for at least five days (Mace & Anderson, 1975). The ideal would be to sterilize the urine by heat (autoclaving), following the standard procedure recommended for controlling microorganisms: 121°C for 20 min at 100 kPa (Aljamali et al., 2020). Because elimination of the eggs retained is greatest in the first few days after surgery, another option for control would be to flush the bladder with saline solution during surgery, after removing the parasites, in order to reduce the dissemination of eggs into the environment through the urine of the affected animals.

Our results indicate that *D. renale* eggs are eliminated in dog urine for at least ten days after the surgical removal of helminths from the kidney, the first three days after surgery being crucial. Therefore, animals with dirotyphosis can be a source of helminth infection even after surgical treatment. This information is important, not only for understanding the parasite life cycle but also for establishing means of control and prophylaxis.

Acknowledgements

The authors would like to thank the owners and their animals; the Ceval Outpatient Clinic; the HCV-UFPel; the UFPel Department of Microbiology and Parasitology; the non-profit *Associação dos Amigos dos Animais Abandonados* (A4, Association of the Friends of Abandoned Animals); and the Pelotas Municipal Kennel. This study was funded by the Brazilian *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES, Office for the Advancement of Higher Education; grant no. COCEPE 8108) and via a doctoral scholarship grant from the UFPel *Programa de Pós-Graduação em Veterinária* (PPGV, Graduate Program in Veterinary Medicine) to Soliane Carra Perera.

Ethics declaration

This study was approved by the Ethics and Animal Experimentation Committee of the UFPel (Reference no. 9221-2017).

Conflict of interest

The authors declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, or publication.

References

- Aljamali NM, Abdullabass HK, Jawad AM, Alfatlawi IO, Jawd SM. Review on types of automatic sterilization Systems in Hospitals. *Internat J Ind Biotech Biomater* 2020; 6(1): 15-21.
- Borin-Crivellenti S, Maia SR. Abordagem da poliúria e polidipsia. In: Crivellenti LZ, Giovaninni LH. *Tratado de nefrologia e urologia em cães e gatos*. São Paulo: MedVet; 2021. p. 93-110.
- Brunner CB, Scheid HV, Venancio FR, Lima JLF, Faccini LS, Sallis ESV, et al. *Diectophyme renale* in wandering dogs in Pelotas, South of Brasil. *Braz J Vet Parasitol* 2022; 31(1): e016821. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612022008>.
- Caye P, Aguiar ESV, Andrades JL, Neves KR, Rondelli MCH, Braga FVA, et al. Report of a rare case of intense parasitism by 34 specimens of *Diectophyme renale* in a dog. *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(4): e011820. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020080>.
- Caye P, Rappeti JCS, Perera SC, Segat HJ, Vives PS, Braga FVA, et al. Nephrectomy in 52 dogs for the treatment of *Diectophyme renale* infection – Knowing the enemy to win. *Top Companion Anim Med* 2024; 58: 100828. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2023.100828>.
- Creevy KE, Grady J, Little SE, Moore GE, Strickler BG, Thompson S, et al. 2019 AAHA canine life stage guidelines. *J Am Anim Hosp Assoc* 2019; 55(6): 267-290. <https://doi.org/10.5326/JAAHA-MS-6999>.
- Eiras J, Zhu XQ, Yurlova N, Pedrassani D, Yoshikawa M, Nawa Y. *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda, Diectophymidae) parasitic in mammals Other than humans: a comprehensive review. *Parasitol Int* 2021; 81: 102269. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102269>.
- Eslahi AV, Mowlavi G, Houshmand E, Pirestani M, Majidiani H, Nahavandi KH, et al. Occurrence of *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) in road-killed canids of Iran and its public health implication. *Vet Parasitol: Reg Stud Reports* 2021; 24: 100568. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100568>.
- Lisbôa A. Estrongilose renal e humana. *Brasil-Médico* 1945; 59(11, 12 e 13): 101-102. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19452901302>.

Mace TF, Anderson RC. Development of the giant kidney worm, *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Dioctophymatoidea). *Can J Zool* 1975; 53(11): 1552-1568. <https://doi.org/10.1139/z75-190>.

Mascarenhas CS, Henzel AB, Müller G. Larvae of *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) and *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in freshwater turtles (Testudines: Chelidae) from Southern Brazil. *Neotrop Helminthol* 2017; 11(1): 61-67.

Mascarenhas CS, Müller G, Macedo MRP, Henzel ABD, Robaldo RB, Corrêa F. The role of freshwater fish in the life cycle of *Diectophyme renale* in Southern Brazil. *Vet Parasitol: Reg Stud Reports* 2019; 16: 100274. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100274>.

Measures LN. Dioctophymatosis. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA, editors. *Parasitic diseases of wild mammals*. 2nd ed. Ames: Iowa State University Press; 2001. p. 357-364.

Milech V, Caye P, Antunes BN, Rappeti JCS, Perera SC, Gehrcke MI, et al. Laparoscopic nephron-sparing surgery for the treatment of canine dioctophymosis. *J Vet Med Sci* 2022; 84(4): 618-623. <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0097>.

Ojeyinka OT, Omaghomi TT. Integrative strategies for zoonotic disease surveillance: a review of one health implementation in the United States. *WJBPHS* 2024; 17(3): 75-86. <https://doi.org/10.30574/wjbphs.2024.17.3.0124>.

Pedrassani D, Hoppe EGL, Avancini N, Nascimento AA. Morphology of eggs of *Diectophyme renale* Goeze, 1782 (Nematoda: Dioctophymatidae) and influences of temperature on development of first-stage larvae in the eggs. *Braz J Vet Parasitol* 2009; 18(1): 15-19. <https://doi.org/10.4322/rbpv.01801003>.

Perera SC, Capella GA, Pinto NB, Rappeti JCS, Müller G, Azambuja RHM, et al. First isolation of *Diectophyme renale* eggs from an urban environment and identification of those from animal urine. *Braz J Vet Parasitol* 2017a; 26(1): 89-91. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016064>.

Perera SC, Mascarenhas CS, Cleff MB, Müller G, Rappeti JCS. Dioctophimosis: a parasitic zoonosis of public health importance. In: Santos HMC, editor. *Translational Urinomics*. Cham: Springer Nature Switzerland AG; 2021. p. 129-142. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-63908-2>.

Perera SC, Rappeti JCS, Milech V, Braga FA, Cavalcanti GO, Nakasu CC, et al. Eliminação de *Diectophyme renale* pela urina em canino com dioctofimatoze em rim esquerdo e cavidade abdominal – Primeiro relato no Rio Grande do Sul. *Arq Bras Med Vet Zootec* 2017b; 69(3): 618-622. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9036>.

Radman NE, Gamboa MI, Butti MJ, Blanco M, Rube A, Terminiello J, et al. Occurrence of dioctophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. *Vet Parasitol: Reg Stud Reports* 2017; 10: 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.07.007>.

Rappeti JCS, Mascarenhas CS, Perera SC, Müller G, Grecco FB, Silva LMC, et al. *Diectophyme renale* (Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2017; 26(1): 119-121. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016072>.

Shakarboev EB, Berdibaev AS, Abdurakhmonov SAU, Kaniyazov AJ. Nematode *Diectophyme renale* Goeze, 1782 (Nematoda, Dioctophymatidae) in predatory mammals in Karakalpakstan. *Eur J Vet Med* 2024; 4(2): 1-3. <https://doi.org/10.24018/ejvetmed.2024.4.2.116>.

Trindade MAC, Macedo MRP, Muller G. *Diectophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatidae) in *Leopardus geoffroyi* (Carnivora: Felidae) in the Neotropical region. *Braz J Vet Parasitol* 2018; 27(2): 223-225. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612017079>.

Yang F, Zhang W, Gong B, Yao L, Liu A, Ling H. A human case of *Diectophyma renale* (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of dioctophymiasis. *Parasite* 2019; 26: 22. <https://doi.org/10.1051/parasite/2019023>.

3.4 Artigo 4

Determinação do potencial anti-helmíntico de extratos aquosos de *Solanum lycocarpum* em ovos de *Diectophyme renale* e avaliação citotóxica

Soliane Carra Perera, Ivandra Ignês de Santi, Helena Piúma Gonçalves, Gabriela de Almeida Capella, Natália Berne Pinheiro, Eduarda Cavalcanti, Rogério Antônio Freitag, Maria Elisabeth Aires Berne, Marcos Marreiro Villela, Fabio Raphael Pascoti Bruhn, Josaine Cristina da Silva Rappeti, Marlete Brum Cleff

Será submetido à Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária

**Determination of the anthelmintic potential of aqueous extracts of
Solanum lycocarpum in *Diectophyme renale* eggs and cytotoxic evaluation**

**Determinação do potencial anti-helmíntico de extratos aquosos de
Solanum lycocarpum em ovos de *Diectophyme renale* e avaliação citotóxica**

Anthelmintic potential of *Solanum lycocarpum* in *Diectophyme renale* eggs

Abstract

Solanum lycocarpum, a plant native to the Brazilian cerrado, is known to prevent dioctophimosis in maned wolves. This parasitosis is caused by *Diectophyme renale*, a nematode that mainly parasites the right kidney of animals and people. As there is no drug treatment against *D. renale*, the objective of this study was to verify the cytotoxicity and the potential for inhibition of embryosation of aqueous extracts of *S. lycocarpum* in nematode eggs. Two aqueous extracts were produced by extracting the ripe fruits of *S. lycocarpum* with distilled water at 20°C (EA1) and 60°C (EA2). *In vitro* tests on *D. renale* eggs were performed at concentrations of 0.31 mg.mL⁻¹, 0.62 mg.mL⁻¹, 1.25 mg.mL⁻¹, 2.5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ and 10 mg.mL⁻¹, as well as positive controls with thiabendazole (0.025 mg.mL⁻¹) and negative controls with distilled water at pH 7, pH 3,8 and pH 4,3. After 28 days in a BOD oven, the anthelmintic activity was evaluated and the cytotoxicity of EA1 and EA2 was verified in bovine kidney cells (Madin Derby Bovine Kidney - MDBK) at concentrations of 0,31 to 40 mg.mL⁻¹. In the *in vitro* tests with *S. lycocarpum*, it was observed that the extracts EA1 and EA2 showed anthelmintic potential of 81,98 to 100% and 62,86 to 100%, respectively, and the concentrations of 0,62 to 10 mg.mL⁻¹ were statistically equal between extracts. The evaluation of extracts in MDBK cells indicated cytotoxicity at 20 and 40 mg.mL⁻¹ in EA1 extract and 40 mg.mL⁻¹ in EA2 extract. Other studies have evaluated the anthelmintic potential of the lobeira, but this work is a pioneer in the evaluation in *D. renale*. From the inhibition of larval embryo in nematode eggs, the aqueous extracts of *S. lycocarpum* have shown promise to be used in the aquatic environment in order to prevent the continuation of the cycle of *D. renale*. Therefore, it is concluded that the aqueous extracts of the ripe fruits of *S. lycocarpum* inhibited the embryonic embryo of *D. renale* without causing cytotoxic effects in MDBK cells in the tested treatments, showing promise in the environmental control of dioctophimosis.

Keywords: *D. renale*, wolf fruit, lobeira, dioctophimosis, aqueous extract, ripe fruit.

Resumo

Solanum lycocarpum, planta nativa do cerrado brasileiro, é conhecida por prevenir a dioctofimose em lobos-guarás. Esta parasitose é causada por *Dioctophyme renale*, um nematódeo que parasita principalmente o rim direito de animais e pessoas. Por não haver tratamento medicamentoso frente a *D. renale*, o objetivo desse trabalho foi verificar a citotoxicidade e o potencial de inibição de embrionamento dos extratos aquosos de *S. lycocarpum* em ovos do nematódeo. Dois extratos aquosos foram produzidos a partir da extração dos frutos maduros de *S. lycocarpum* com água destilada a 20°C (EA1) e 60°C (EA2). Os testes *in vitro* em ovos de *D. renale* foram realizados nas concentrações de 0,31 mg.mL⁻¹, 0,62 mg.mL⁻¹, 1,25 mg.mL⁻¹, 2,5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹, assim como controles positivo com tiabendazol (0,025 mg.mL⁻¹) e negativos com água destilada em pH 7, pH 3,8 e pH 4,3. Depois de 28 dias em estufa B.O.D., avaliou-se a atividade anti-helmíntica, e verificou-se a citotoxicidade de EA1 e EA2 em células de rim bovino (Madin Derby Bovine Kidney – MBDK) nas concentrações de 0,31 a 40 mg.mL⁻¹. Nos testes *in vitro* com *S. lycocarpum*, observou-se que os extratos EA1 e EA2 apresentaram potencial anti-helmíntico de 81,98 a 100% e 62,86 a 100%, respectivamente, e as concentrações de 0,62 a 10 mg.mL⁻¹ foram estatisticamente iguais entre os extratos. A avaliação dos extratos em células MBDK indicou citotoxicidade a 20 e 40 mg.mL⁻¹ no extrato EA1 e a 40 mg.mL⁻¹ no extrato EA2. Outros estudos têm avaliados o potencial anti-helmíntico da lobeira, mas este trabalho é pioneiro na avaliação em *D. renale*. A partir da inibição de embrionamento larval em ovos do nematódeo, os extratos aquosos de *S. lycocarpum* se mostraram promissores para serem utilizados no meio aquático a fim de impedir a continuação do ciclo de *D. renale*. Portanto, conclui-se que os extratos aquosos dos frutos maduros de *S. lycocarpum* inibiram o embrionamento de ovos de *D. renale* sem causar efeitos citotóxicos em células MBDK nos tratamentos testados, mostrando-se promissores no controle ambiental da dioctofimose.

Palavras-chave: *D. renale*, fruta-do-lobo, lobeira, dioctofimose, extrato aquoso, fruto maduro.

Introdução

Solanum lycocarpum é uma planta nativa do cerrado brasileiro pertencente à família Solanaceae (MOURA et al., 2010), sendo conhecida popularmente como fruta-do-lobo e lobeira (MOTTA-JUNIOR & MARTINS, 2002). A planta tem fruto em formato globoso grande, podendo atingir até 500 gramas de peso (CORRÊA et al., 2000). Quando maduro, a polpa se apresenta amarelada, macia, adocicada e bastante aromática (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004).

Alguns trabalhos têm demonstrado propriedades medicinais da fruta-do-lobo, como redução da glicemia em ratos diabéticos e do nível de colesterol hepático, assim como atividade antiproliferativa em células tumorais humanas (ROCHA et al., 2012; FARINA et al., 2010; MUNARI et al., 2014). Além destas, extratos e compostos alcaloides de *S. lycocarpum* têm sido estudados a fim de verificar ação contra parasitos, como *Leishmania amazonenses*, *Trypanosoma cruzi*, *Giardia lamblia*, *Schistosoma mansoni*, *Strongyloides venezuelensis* e *Aspiculuris tetráptera* (BORBA et al., 2010; MIRANDA, 2010; MIRANDA et al., 2012; MIRANDA et al., 2013; MOREIRA et al., 2013; MARTINS et al., 2015).

Os frutos de *S. lycocarpum* têm sido relacionados com a prevenção da ocorrência da diotofimose em lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), uma vez que servem de alimento para esses animais (SANTOS et al., 2003; RODRIGUES et al., 2007). Essa parasitose é causada por *Dioctophyme renale*, um nematódeo capaz de parasitar mamíferos domésticos e silvestres, entre eles o lobo-guará (PESENTI et al., 2012; PERERA et al., 2017; VIEIRA et al., 2017). O nematódeo também é capaz de infectar a espécie humana, apresentando potencial zoonótico, (YANG et al., 2019).

Dioctophyme renale apresenta ciclo heteróximo, necessitando a presença de um hospedeiro intermediário (HI). Assim, após os hospedeiros definitivos (HD) eliminarem ovos do parasito pela urina, os mesmos são ingeridos pelo HI (anelídeo oligoqueta aquático), permitindo que a larva evolua até o terceiro estágio (L3), a qual é infectante para os HD. Estes, por sua vez, podem se parasitar ao ingerir os anelídeos infectados junto à água contaminada, ou ao se alimentar de hospedeiros paratênicos (HP), como anfíbios e anuros, que ingeriram os anelídeos infectados previamente (MACE & ANDERSON, 1975; MEASURES, 2001).

Dioctophyme renale parasita principalmente o rim direito de animais e pessoas, causando a destruição do parênquima e, conseqüentemente, levando à perda de função

renal, podendo causar o óbito, principalmente quando ambos os rins são parasitados (LI et al., 2010; SAPIN et al., 2017a, b). Quando presente, a sintomatologia clínica costuma ser relacionada a alterações do sistema geniturinário (YANG et al., 2019). No entanto, muitas vezes os sinais clínicos são ausentes, dificultando a suspeita da doença (SOUSA et al., 2011). O diagnóstico da dioctofimose é feito principalmente por exames de urina e de ultrassom abdominal, onde é possível a identificação de ovos e de helmintos, respectivamente (BURGOS et al., 2014; RAPPETI et al., 2017). Na maioria dos casos, o tratamento é feito através da remoção cirúrgica dos parasitos e nefrectomia do rim parasitado (PEDRASSANI & NASCIMENTO, 2015; SAPIN et al., 2017b).

Uma vez que não há tratamento medicamentoso para a parasitose e que as lesões causadas por *D. renale* são irreversíveis e muitas vezes fatais aos HD, acredita-se que o controle da dioctofimose seja a melhor forma de evitar a sua ocorrência em animais e humanos. Nesse sentido, *S. lycocarpum* representa um importante alvo para estudos devido às propriedades antiparasitárias em diferentes helmintos (MIRANDA et al., 2013; MOREIRA et al., 2013; MARTINS et al., 2015), assim como por ser popularmente conhecido por prevenir a infecção de *D. renale* em lobos-guarás (SANTOS et al., 2003). Na literatura científica consultada, não foram encontrados estudos avaliando a ação anti-helmíntica de *S. lycocarpum* frente a *D. renale*, sendo este um trabalho pioneiro. Assim, o objetivo deste estudo foi verificar o potencial de inibição de embrionamento de ovos de *D. renale* tratados com extratos aquosos dos frutos de *S. lycocarpum*, assim como determinar a citotoxicidade dos extratos.

Materiais e Métodos

O estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da UFPel, obtendo-se a permissão das coletas de urina de cães parasitados por *D. renale* (CEEAA 4390-2015).

Obtenção dos ovos

Os ovos de *D. renale* foram recuperados a partir de urina de cães naturalmente parasitados. Em seguida, as amostras com ovos passaram por lavagens através da técnica de centrifugo-sedimentação (3.000 rpm por 5 minutos). Esse processo foi repetido três vezes e, em seguida, os ovos foram armazenados sob refrigeração.

Obtenção da planta

Os frutos de *S. lycocarpum* foram obtidos em propriedade particular na cidade de Ibirité, Minas Gerais, Brasil (20° 01' 44" S, 44° 03' 10" O). Para identificação de gênero e espécie da planta, foi realizada uma exsicata contendo suas folhas e flores, a qual está depositada no Herbário BHCB da Universidade de Minas Gerais (UFMG) sob o registro BHCB 162130.

Preparação dos extratos

Os frutos de *S. lycocarpum* foram encaminhados para o Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas para a preparação dos extratos aquosos de acordo com as normas da Farmacopeia Brasileira IV (ROCHA, 1988). Após o amadurecimento, a casca e a polpa dos frutos foram cortadas em pequenos pedaços e, em seguida, passaram pelo processo de secagem em estufa com circulação de ar a 37°C.

Para a produção dos extratos aquosos, a casca e a polpa de *S. lycocarpum* foram misturadas de maneira uniforme e trituradas em moinho de facas. No primeiro extrato aquoso (EA1), 135,87 gramas da planta triturada foi extraída com 200 mL de água destilada (solvente) a aproximadamente 20°C durante 30 minutos, sendo filtrado o extrato obtido. Para o preparo do segundo extrato aquoso (EA2), utilizou-se 129,93 gramas da planta triturada, adicionada de 200 mL de água destilada a temperatura de 60°C e levada ao ultrassom por 30 minutos. Ao término dos processos, os extratos foram armazenados em frascos protegidos da luz e congelados em ultra freezer a -70°C para posterior liofilização.

Testes *in vitro* de inibição de embrionamento

A avaliação da atividade *in vitro* foi realizada em cabine de fluxo laminar, utilizando placas de microcultivo de 24 poços contendo, aproximadamente, 120 ovos de *D. renale* em cada poço. Os tratamentos com os extratos EA1 e EA2 foram feitos em seis concentrações (0,31 mg.mL⁻¹, 0,62 mg.mL⁻¹, 1,25 mg.mL⁻¹, 2,5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹), em diluições seriadas e com quatro repetições cada uma.

Durante os testes, foi aferido o pH dos extratos, constatando-se que ambos estavam ácidos (pH 3,8 e 4,3), diferentemente da água destilada estéril utilizada no controle negativo (pH 7). Portanto, a fim de averiguar se a acidez do meio poderia interferir no desenvolvimento larval no interior dos ovos de *D. renale*, adicionou-se ao

teste três controles negativos com água destilada, sendo estes água com pH 7, água com pH 3,8 e água com pH 4,3. O ensaio também foi acompanhado de um controle positivo com cloridrato de tiabendazol (0,025 mg.mL⁻¹).

Por fim, as placas foram fechadas, embaladas com filme plástico e incubadas em estufa B.O.D a 27°C (± 1°C) por 28 dias. A análise dos resultados dos tratamentos foi realizada no 28º dia em microscópio de luz invertida para análise do embrionamento larval no interior dos ovos (FREITAS, 1980 citado por PEDRASSANI et al., 2009).

Citotoxicidade dos extratos

As células de rim bovino (Madin Derby Bovine Kidney - MBDK) foram semeadas em placas de 96 poços. Depois de formado o tapete celular, foram adicionadas as soluções dos extratos aquosos de EA1 e EA2, realizando-se o teste em quadruplicata e em diluições seriadas em oito concentrações (0,31 mg.mL⁻¹ a 40 mg.mL⁻¹). Após 24 horas de incubação a 37 °C com 5% de CO₂, a viabilidade celular foi avaliada segundo Mosmann (1983), através do método do MTT (Sigma-Aldrich®, USA), e a análise realizada em seguida em espectrofotômetro a 540 nm. As células MBDK tratadas somente com E-MEM serviram como controles negativos em pH 3,8 nos testes do extrato EA1 e pH 4,3 nos testes do extrato EA2, assim como células tratadas com tiabendazol 0,025 mg.mL⁻¹ serviram como controle positivo.

A classificação dos extratos quanto à toxicidade celular baseou-se em Mahmoud e colaboradores (2011), sendo considerado alta citotoxicidade quando a viabilidade celular esteve entre 1 e 50%, moderada citotoxicidade quando a viabilidade esteve entre 51 e 75%, e baixa citotoxicidade quando a viabilidade esteve entre 75 e 100%. O percentual de viabilidade celular foi avaliado utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{Viabilidade celular (\%)} = \frac{\text{média do tratamento}}{\text{média do controle}} \times 100$$

Análise estatística

Os testes de citotoxicidade e a atividade *in vitro* dos extratos EA1 e EA2 foram analisados de forma individual com os controles negativos e positivo através do Teste de ANOVA seguido de Teste de Comparação múltipla de Tukey com distribuição normal. Esse mesmo teste foi utilizado para comparar os três controles negativos de água destilada entre si nos testes *in vitro*. Ainda, realizou-se a análise comparada das mesmas

concentrações entre os tratamentos *in vitro* dos extratos EA1 e EA2 pelo Teste T de Student.

Resultados

Rendimento e características dos extratos

Após a liofilização, foram obtidos 14,275 gramas de EA1 e 20,841 gramas de EA2, correspondendo a um rendimento de 10,50% (EA1) e 16,03% (EA2) de material vegetal seco. Os extratos liofilizados adquiriram consistência endurecida, sendo que o extrato EA2 apresentou característica mais ligante que EA1, e nenhum deles apresentou estrutura exclusiva de pó. Ambos os extratos liofilizados apresentaram coloração laranja-amarronzada e odor característico.

Depois de diluídos em água destilada estéril para a realização dos testes *in vitro*, observou-se que ambos os extratos apresentaram coloração amarela clara, odor marcante e discreta turbidez. O extrato EA2 se mostrou um pouco mais resistente à diluição por ser mais maleável/flexível que o extrato EA1, mas ambos alcançaram o nível de solubilidade desejado. Ao aferir o pH dos extratos, verificou-se que os mesmos acidificaram o meio aquoso, sendo que EA1 e EA2 apresentaram pH 3,8 e pH 4,3, respectivamente.

Testes *in vitro* de inibição de embrionamento

No teste do extrato EA1, os controles negativos com água destilada em pH 7 e pH 3,8 não apresentaram diferença estatística entre si, sendo a média de embrionamento de 42,99% e 40,91%, respectivamente. Além disso, os seis tratamentos utilizados do extrato EA1 inibiram a formação da L1 nos ovos de *D. renale* (entre 81,98% e 100% de inibição), sendo estatisticamente iguais nas cinco maiores concentrações entre si (0,62 mg.mL⁻¹, 1,25 mg.mL⁻¹, 2,5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹) e com o controle positivo de tiabendazol (Tabela 1). Ainda, os seis tratamentos testados apresentaram diferença estatística com os controles negativos de água destilada de pH 7 e pH 3,8.

No teste do extrato EA2, os controles negativos com água destilada em pH 7 e pH 4,3 não apresentaram diferença estatística entre si, sendo a média de embrionamento de 42,99% e 39,68%, respectivamente. Além disso, as cinco maiores concentrações utilizadas (0,62 mg.mL⁻¹, 1,25 mg.mL⁻¹, 2,5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹) apresentaram ação anti-helmíntica nos ovos de *D. renale* (entre 95,86 e 100% de inibição), sendo também estatisticamente iguais entre si e com o controle positivo de

tiabendazol (Tabela 1). Essas concentrações apresentaram diferença estatística com os controles negativos de água destilada em pH 7 e pH 4,3, e também com o tratamento de menor concentração ($0,31 \text{ mg.mL}^{-1}$). Observou-se também que o tratamento a $0,31 \text{ mg.mL}^{-1}$ foi estatisticamente igual aos dois controles com água destilada.

Na análise estatística entre os dois extratos aquosos a fim de comparar as mesmas concentrações entre si, observou-se que o único tratamento que apresentou diferença estatística foi o de menor concentração em ambos os extratos ($0,31 \text{ mg.mL}^{-1}$). Os demais tratamentos dos extratos EA1 e EA2 foram estatisticamente iguais entre si (Tabela 1).

Tabela 1. Médias das taxas de inibição de embrionamento dos ovos de *D. renale* no 28º dia de tratamento com os extratos aquosos EA1 e EA2 de *S. lycocarpum* e o controle positivo de tiabendazol ($0,025 \text{ mg.mL}^{-1}$).

Compostos	Tratamentos	EA1	EA2
	mg.mL^{-1}	%	%
Extratos aquosos de <i>S. lycocarpum</i>	10	100 ($\pm 0,00$) ^A	99,82 ($\pm 0,21$) ^A
	5	100 ($\pm 0,00$) ^A	100 ($\pm 0,00$) ^A
	2,5	99,91 ($\pm 0,19$) ^A	99,57 ($\pm 0,48$) ^A
	1,25	99,91 ($\pm 0,18$) ^A	99,19 ($\pm 0,53$) ^A
	0,62	99,59 ($\pm 0,47$) ^A	95,86 ($\pm 5,67$) ^A
	0,31	81,98 ($\pm 4,11$) ^B	62,86 ($\pm 4,74$) ^C
Tiabendazol	0,025	100 ($\pm 0,00$) ^A	100 ($\pm 0,00$) ^A

Letras maiúsculas representam a comparação dos resultados inclusos na mesma coluna e na mesma linha. Diferentes letras indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).

EA1: Extrato aquoso de *S. lycocarpum* produzido com água destilada a 20°C ;

EA2: Extrato aquoso de *S. lycocarpum* produzido com água destilada a 60°C .

Citotoxicidade dos extratos

Nos testes de citotoxicidade, observou-se que ambos os controles negativos com E-MEM em pH 4 e pH 5 apresentaram boa viabilidade celular e foram estatisticamente diferentes do controle positivo de tiabendazol, o qual apresentou alta citotoxicidade.

Nos testes realizados com o extrato EA1, observou-se que os dois tratamentos mais concentrados (40 mg.mL^{-1} e 20 mg.mL^{-1}) foram estatisticamente iguais entre si e com o controle positivo de tiabendazol, e diferentes do controle negativo de E-MEM em

pH 4, sendo assim considerados tóxicos a nível celular em MBDK. Os demais tratamentos do extrato EA1 (0,31 a 10 mg.mL⁻¹) foram estatisticamente iguais entre si e com o controle negativo de E-MEM, não sinalizando citotoxicidade. A única exceção foi o tratamento a 1,25 mg.mL⁻¹ que foi diferente das concentrações de 2,5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹.

Já nos testes de citotoxicidade do extrato EA2, observou-se que apenas o tratamento com 40 mg.mL⁻¹ foi estatisticamente igual ao tiabendazol, e diferente dos demais tratamentos do extrato e do controle negativo de E-MEM com pH 5. Portanto, essa concentração foi considerada tóxica às células MBDK. No entanto, os demais tratamentos (0,31 a 20 mg.mL⁻¹) foram estatisticamente iguais entre si e com o controle com E-MEM, sinalizando efeito não tóxico na células.

Tabela 2. Médias das taxas de viabilidade celular em células MBDK após 24 horas de tratamento com extratos aquosos EA1 e EA2 de *Solanum lycocarpum*, e controle positivo de tiabendazol (0,025 mg.mL⁻¹).

Compostos	Tratamentos mg.mL⁻¹	EA1 %	EA2 %
Extratos aquosos de <i>Solanum lycocarpum</i>	40	17,96 (±0,04) ^A	12,66 (±0,02) ^A
	20	16,56 (±0,01) ^A	79,24 (±0,24) ^B
	10	100,00 (±0,06) ^B	89,19(±0,29) ^B
	5	100,00 (±0,30) ^{BC}	94,00 (±0,29) ^B
	2,5	100,00 (±0,31) ^B	100,00 (±0,27) ^B
	1,25	100,00 (±0,05) ^C	100,00 (±0,21) ^B
	0,62	100,00 (±0,11) ^{BC}	100,00 (±0,04) ^B
	0,31	100,00 (±0,18) ^{BC}	100,00 (±0,17) ^B
Tiabendazol	0,025	13,04 (±0,00) ^A	12,80 (± 0,00) ^A

Letras maiúsculas representam a comparação dos resultados inclusos na mesma coluna. Diferentes letras indicam valores significativamente diferentes (p<0,05).

EA1: extrato aquoso de *S. lycocarpum* produzido com água destilada em temperatura ambiente; EA2: extrato aquoso de *S. lycocarpum* produzido com água destilada a 60 °C.

Discussão

O uso de plantas medicinais tem sido amplamente estudado na medicina veterinária a fim de comprovar a sua ação anti-helmíntica em nematódeos gastrintestinais de ruminantes e de animais de companhia (SANTOS et al., 2013; PINTO et al., 2019). No entanto, não há pesquisas com *D. renale* publicadas até o momento. A partir disso, realizou-se o presente estudo com extratos aquosos de *S. lycocarpum*, uma vez que essa planta é conhecida empiricamente por prevenir a dioctofimose em lobos-guarás (SANTOS et al., 2003), sendo observado efeito antiparasitário frente a *D. renale* neste estudo.

As cinco maiores concentrações do extrato EA2 (0,62 mg.mL⁻¹, 1,25 mg.mL⁻¹, 2,5 mg.mL⁻¹, 5 mg.mL⁻¹ e 10 mg.mL⁻¹) apresentaram potencial de inibição de embrionamento nos ovos de 95,86% a 100%, enquanto que o extrato EA1 apresentou 99,59% a 100% nos mesmos tratamentos, destacando-se como extrato mais eficaz. Embora o extrato aquoso EA2 tenha apresentado efeito brevemente reduzido em comparação com o extrato EA1, não houve diferença estatística entre eles nos tratamentos citados ($p < 0,05$), caracterizando ambos como igualmente eficazes. Além disso, tanto o extrato EA1 quanto o extrato EA2 apresentaram menor eficácia no tratamento a 0,31 mg.mL⁻¹, inibindo o embrionamento dos ovos em 81,98% e 62,86%, respectivamente.

Os frutos da lobeira costumam apresentar pH mais ácido (em torno de pH 4,42) (OLIVEIRA JUNIOR et al., 2004), sendo essa a provável causa da redução do pH após a solubilização dos extratos aquosos liofilizados em água destilada com pH 7. Portanto, realizou-se testes com controles negativos em água destilada acidificada (pH 3,8 e pH 4,3), observando-se que a acidez das soluções não interferiu no desenvolvimento larval no interior dos ovos de *D. renale*.

Na parasitologia veterinária, há pesquisas em busca da ação de *S. lycocarpum* em protozoários como *Giardia lamblia* e *Leishmania* spp. (MARTINS et al., 2015; MANS et al., 2016), porém os estudos em nematódeos são escassos e referentes a helmintos de camundongos. Entre eles, Borba e colaboradores (2010) utilizaram extrato aquoso das folhas de *S. lycocarpum* a fim de avaliar a sua ação em *Aspiculuris tetráptera*, e observaram redução significativa na eliminação de parasitos nas concentrações de 10% e 20% do extrato, em comparação com o grupo não tratado. Ademais, Miranda (2010) observou a ação do extrato alcaloidico (2 mg.mL⁻¹ e 1 mg.mL⁻¹) dos frutos de *S. lycocarpum* contra *Strongyloides venezuelensis*, observando 100% e 67% de mortalidade,

respectivamente, após 72 horas de contato com o extrato. Mesmo com diferenças entre os extratos utilizados nos trabalhos, com relação às partes da planta e métodos de produção, essas pesquisas mostraram-se efetivas no controle dos respectivos helmintos. O mesmo pôde ser observado no presente estudo, o qual apresentou ação anti-helmíntica satisfatória em ovos de *D. renale* a partir de extratos aquosos do fruto maduro de *S. lycocarpum*, incluindo em concentrações menores que as utilizadas por Miranda (2010).

A ação terapêutica das plantas medicinais é decorrente das substâncias ativas presentes nos seus extratos (ANVISA, 2010). Entre os compostos detectados em plantas da família Solanaceae, principalmente em *S. lycocarpum*, destacam-se os glicoalcaloides solamargina e solasonina (BLANKEMEYER et al., 1998; TIOSSI et al., 2014). Esses glicoalcaloides têm se apresentado como componentes ativos contra parasitos, entre eles protozoários, trematódeos e nematódeos (BORBA et al., 2010; MIRANDA, 2010; MIRANDA et al., 2012; MIRANDA et al., 2013; MOREIRA et al., 2013; MARTINS et al., 2015). Por serem solúveis em água, é possível que a solamargina e a solasonina estejam presentes nos extratos aquosos EA1 e EA2 de *S. lycocarpum* utilizados no presente estudo, sendo necessário realizar a análise fitoquímica destes a fim de confirmar a presença de glicoalcaloides.

Uma vez que o embrionamento dos ovos de *D. renale* ocorre no ambiente aquático, os extratos aquosos de EA1 e EA2 se mostraram promissores para o uso nesse meio, podendo atuar no controle do ciclo biológico do nematódeo. Ao inibir a formação da larva L1 no interior dos ovos, os anelídeos aquáticos não vão se infectar ao ingeri-los e, consequentemente, não será formada a larva infectante (L3) para HP e HD. Dessa forma, a atividade dos extratos aquosos de EA1 e EA2 pode favorecer a interrupção do ciclo de *D. renale* e prevenir o parasitismo em animais e humanos. Além disso, uma das vantagens dos produtos naturais é que estes apresentam baixo risco ao meio ambiente por não conterem substâncias contaminantes, como ocorre com as drogas químicas (ZAJÍCKOVÁ et al., 2019). Nesse sentido, por serem produtos naturais e produzidos à base de água, sem necessidade de adição de outros componentes químicos para a sua solubilização, os extratos aquosos EA1 e EA2 de *S. lycocarpum* podem agir sem causar prejuízos ao ecossistema.

Outro dado importante verificado nesse estudo, foi que os extratos aquosos de *S. lycocarpum* apresentaram efeitos citotóxicos apenas nas concentrações de 20 mg.mL⁻¹ (EA1) e 40 mg.mL⁻¹ (EA1 e EA2) nas células MBDK. Dessa forma, é possível observar que os tratamentos testados *in vitro* com os extratos em ovos de *D. renale* não foram

citotóxicos (0,31 a 10 mg.mL⁻¹), sendo que o extrato EA2 apresentou maior segurança em células MBDK. Outros trabalhos têm avaliado os efeitos tóxicos de extratos de *S. lycocarpum*. Entre eles, Andrade et al. (2016) verificaram que o extrato hidroalcoólico de frutos verdes de *S. lycocarpum* não causou citotoxicidade nas concentrações de 1 a 64 mg.mL⁻¹ em células de mamíferos (V79). A partir do exposto, observa-se que ambos os estudos apresentam resultados promissores a respeito da citotoxicidade de diferentes extratos de *S. lycocarpum*, uma vez que os extratos aquosos EA1 e EA2, e o extrato hidroalcoólico não foram citotóxicos até 10 mg.mL⁻¹, 20 mg.mL⁻¹ e 64 mg.mL⁻¹, respectivamente.

Além de apresentar potencial antiparasitário sem causar citotoxicidade nos tratamentos avaliados *in vitro*, os extratos aquosos de *S. lycocarpum* apresentaram um bom rendimento quando comparados a outras plantas da família Solanaceae, como é o caso de *Solanum melongena* (berinjela). O extrato aquoso do pó de frutas dessa planta rendeu 5,2% (TIWARI et al., 2009), enquanto que os extratos aquosos EA1 e EA2 de *S. lycocarpum* renderam 10,50% e 16,03%, respectivamente, correspondendo a um rendimento de 2 a 3 vezes maior que *S. melongena*.

Embora o extrato EA1 tenha apresentado menor rendimento que o extrato EA2 e citotoxicidade na concentração de 20 mg.mL⁻¹, o potencial anti-helmíntico do extrato EA1 foi maior em uma concentração mais baixa (0,62 mg.mL⁻¹) quando comparado ao extrato EA2. Além disso, o extrato EA1 foi produzido com água destilada a 20°C, não necessitando de aquecimento e, conseqüentemente, reduzindo os gastos na sua produção. Portanto, acredita-se que o extrato EA1 apresente melhor custo-benefício para a indústria farmacêutica e para uso na forma de controle de *D. renale* no meio ambiente.

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, é possível concluir que os extratos aquosos dos frutos maduros de *S. lycocarpum* foram capazes de inibir o embrionamento de ovos de *D. renale* sem causar efeitos citotóxicos em células MBDK. Dessa forma, ambos os extratos se mostraram promissores no controle ambiental da dioctofimose, destacando-se o extrato EA1 com maior eficácia mesmo em concentrações menores.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia (DEMP) e ao Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos

(CCQFA) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), assim como ao apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento COCEPE 8108.

Referências Bibliográficas

ANDRADE, A.F.; ALVEZ, J.M.; CORRÊA, M.B.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S.; TAVARES, D.C. In vitro cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxicity assessment of *Solanum lycocarpum* hydroalcoholic extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 11, p. 2786-2790, 2016.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução - RDC nº 10, de 9 de março de 2010. 2010. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao10_09_03_10.pdf> Acesso em: 07 fev. 2020.

BLANKEMEYER, J.T.; MCWILLIAMS, M.L.; RAYBURN, J.R.; WEISSENBERG, M.; FRIEDMAN, M. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p.383-389, 1998.

BORBA, H.R.; FREIRE, R.B.; ALBUQUERQUE, A.C.; CARDOSO, M.E.O.; BRAGA, I.G.; ALMEIDA, S.T.P.; FERREIRA, M.J.C.; FERNANDES, G.L.T.; CAMACHO, A.C.L.F.; LIMA, R.C.; ALMEIDA, A.C.C.; MATTOS, D.M.M.; DUARTE, R.M.; NASCIMENTO, S.F.; FRAMIL, R.A.; DIRÉ, G.F. Anthelmintic comparative study of *Solanum lycocarpum* St. Hill extracts in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. **Nature and Science**, v.8, n.4, p.95-100, 2010.

BURGOS, L.; ACOSTA, R.M.; FONROUGE, R.D.; ARCHELLI, S.M.; GAMBOA, M.I.; LINZITTO, O.R.; LINZITTO, J.P.; OSEN, B.A.; RADMAN, N.E. Prevalence of a zoonotic parasite, *Diocetophyma renale* (Goeze, 1782), among male canines in a wild riverside area of la plata river, province of Buenos Aires, Republic of Argentina. **Revista de Patologia Tropical**, v.43, n.4, p.420-426, 2014.

CORRÊA, A.D.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D.; RIBEIRO, L.J. Constituintes químicos da fruta-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante a maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.130-135, 2000.

FARINA, F.; PIASSI, F.G.; MOYSÉS, M.R.; BAZZOLLI, D.M.S.; BISSOLI, N.S. Glycemic and urinary volume responses in diabetic mellitus rats treated with *Solanum lycocarpum*. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v.35, p.40-44, 2010.

LI, G.; LIU, C.; LI, F.; ZHOU, M.; LIU, X.; NIU, Y. Fatal bilateral dioctophymatosis. **Journal of Parasitology**, v.96, n.6, p.1152-1154, 2010.

MACE, T.F.; ANDERSON, R.C. Development of the giant kidney worm, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Dioctophymatoidea). **Canadian Journal of Zoology**, v. 53, p. 1552-1568, 1975.

MAHMOUD, T.S.; MARQUES, M.R.; PESSOA, C.O.; LOTUFO, L.V.C.; MAGALHÃES, H.I.F; MORAES, M.O.; LIMA, D.P.; TININIS, A.G.; OLIVEIRA, J.E. In vitro cytotoxic activity of Brazilian Middle West plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.21, n.3, p.456-464, 2011.

MANS, D.R.A.; BEERENS, T.; MAGALI, I.; SOEKHOE, R.; SCHOONE, G.J.; OEDAIRADJSINGH, K.; HASRAT, J.A.; VANDENBOGAART, E.; SCHALLIG, H.D.F.H. In vitro evaluation of traditionally used Surinamese medicinal plants for their potential anti-leishmanial efficacy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 180, p. 70-77, 2016.

MARTINS, G.Z.; MOREIRA, R.R.D.; PLANETA, C.S.; ALMEIDA, A.E.; BASTOS, J.K.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; SOUSA, M.C. Effects of the extract and glycoalkaloids of *Solanum lycocarpum* St. Hill on *Giardia lamblia* trophozoites. **Pharmacognosy Magazine**, v.11, n.42, p.161-165, 2015.

MEASURES, Lena N. **Dioctophymatosis**. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2^a ed. Iowa: Iowa State University Press, 2001. p.357-364.

MIRANDA, Mariza Abreu. **Avaliação do potencial antiparasitário do extrato alcaloídico e de alcaloides esteroidais dos frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.** 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

MIRANDA, M.A.; KUEHN, C.C.; CARDOSO, J.F.R.; OLIVEIRA, L.G.R.; MAGALHÃES, L.G.; TIOSSI, R.F.J.; RODRIGUES, V.; ZUCOLLOTO, S.; PRADO JR., J.C.; MCCHESENEY, J.D.; BASTOS, J.K. Immunomodulatory effect of the alkaloidic extract of *Solanum lycocarpum* fruits in mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology**, v.133, p.396-402, 2013.

MIRANDA, M.A.; MAGALHÃES, L.G.; TIOSSI, R.F.J.; KUEHN, C.C.; OLIVEIRA, L.G.R.; RODRIGUES, V.; MCCHESENEY, J.D.; BASTOS, J.K. Evaluation of the schistosomicidal activity of the steroidal alkaloids from *Solanum lycocarpum* fruits. **Parasitology Research**, v.111, p.257-262, 2012.

MOREIRA, R.R.D.; MARTINS, G.Z.; MAGALHÃES, N.O.; ALMEIDA, A.E.; PIETRO, R.C.L.R.; SILVA, F.A.J.; CICARELLI, R.M.B. *In vitro* trypanocidal activity of solamargine and extracts from *Solanum palinacanthum* and *Solanum lycocarpum* of brazilian cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, n.3, p.903-907, 2013.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOTTA-JUNIOR; José Carlos; MARTINS, Karina. The frutivorous diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in Brazil: ecology and conservation. In: LEVEY, Douglas J.; SILVA, Wesley R.; GALETTI, Mauro. **Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation**. Rio Quente: CABI, 2002. p. 291-303.

MOURA, T.M.; OLIVEIRA, G.C.X.; CHAVES, L.J. Correlação entre floração, frutificação e variáveis ambientais em *Solanum lycocarpum*. A. St. Hil, Solanaceae. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, p. 457-462, 2010.

MUNARI, C.C.; OLIVEIRA, P.F.; CAMPOS, J.C.L.; MARTINS, S.P.L.; DA COSTA, J.C.; BASTOS, J.K.; TAVARES, D.C. Antiproliferative activity of *Solanum lycocarpum* alkaloidic extract and their constituents, solamargine and solasonine, in tumor cell lines. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, p. 236-241, 2014.

OLIVEIRA JUNIOR, E.N.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.P.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, J.Z.L. Alterações pós-colheita da “fruta-de-lobo” (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.3, p.410-413, 2004.

PEDRASSANI, D.; HOPPE, E.G.L.; AVANCINI, N.; NASCIMENTO, A.A. Morphology of eggs of *Diectophyma renale* Goeze, 1782 (Nematoda: Diectophymatidae) and influences of temperature on development of first-stage larvae in the eggs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 15-19, 2009.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A. Verme gigante renal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, p.30-37, 2015.

PERERA, S.C; RAPPETI, J.C.S.; MILECH, V.; BRAGA, F.A.; CAVALCANTI, G.O.; NAKASU, C.C.; DURANTE, L.; VIVES, P.; CLEFF, M.B. Eliminação de *Diectophyma renale* pela urina em canino com diectofomatose em rim esquerdo e cavidade abdominal – Primeiro relato no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.3, p.618-622, 2017.

PESENTI, T.C.; MASCARENHAS, C.S.; KRÜGERL, C.; SINKOC, A.L.; ALBANO, A.P.N.; COIMBRA, M.A.A.; MÜLLER, G. *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) colletmeygret, 1802 (Diectophymatidae) in *Galictis cuja* (Molina, 1782) (Mustelidae) in Rio Grande do Sul, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 6, n. 2, p. 301-305, 2012.

PINTO, N.B.; CASTRO, L.M.; AZAMBUJA, R.H.M.; CAPELLA, G.A.; MOURA, M.Q.; TERTO, W.D.; FREITAG, R.A.; JESKE, S.T.; VILLELA, M.M.; CLEFF, M.B.; LEITE, F.P.L. Ovicidal and larvicidal potential of *Rosmarinus officinalis* to control

gastrointestinal nematodes of sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 28, n. 4, p. 807-811, 2019.

RAPPETI, J.C.S.; MASCARENHAS, C.S.; S.C.; MÜLLER, G.; GRECCO, F.B.; SILVA, L.M.S.; SAPIN, C.F.; RAUSCH, S.F.; CLEFF, M.B. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.119-121, 2017.

ROCHA, D.A.; ABREU, C.M.P.; SOUSA, R.V.; CORRÊA, A.D.; FONSECA, E.W.N. Avaliação preliminar *in vivo* do efeito hipocolesterolêmico do povilho da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* A. St.-Hil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p.362-369, 2012.

ROCHA, João Gilvan. **Farmacopéia Brasileira**. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 392p.

RODRIGUES, F.H.G.; HASS, A.; LACERDA, A.C.R.; GRANDO, R.L.S.C.; BAGNO, M.A.; BEZERRA, A.M.R.; SILVA, W.R. Feeding habits of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the brazilian cerrado. **Mastozoologia Neotropical**, v.14, n.1, p.37-51, 2007.

SANTOS, E.F.; SETZ, E.Z.F.; GOBBI, N. Diet of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and its role in seed dispersal on a cattle ranch in Brazil. **Journal of Zoology**, v.260, p.203-208, 2003.

SANTOS, I.A.; SOUZA, F.J.M.A.; AKISUE, G.; COELHO, F.A.S.; COELHO, M.D.G. Avaliação da atividade ovicida e larvicida de dez extratos vegetais ante *Ancylostoma* ssp. **Revista Patologia Tropical**, v.42, n.2, p.209-216, 2013.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; CORRÊA, L.G.; RAPPETI, J.C.S.; DURANTE, L.C.; PERERA, S.C.; CLEFF, M.B.; GRECCO, F.B. Dioctofimatoze renal bilateral e disseminada em cão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.12, p.1499-1504, 2017a.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; PIOVESAN, A.D.; FERNANDES, C.G.; RAPPETI, J.C.S.; BRAGA, F.V.A.; CAVALCANTE, G.A.; ROSENTHAL, B.M.;

GRECCO, F.B. Estudo Anatomopatológico de rins parasitados por *Dioctophyme renale* em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, Pun. 1441, p. 1-7, 2017b.

SOUSA, A.A.R.; SOUSA, A.A.S.; COELHO, M.C.O.C.; QUESSADA, A.M.; FREITAS, M.V.M.; MORAES, R.F.N. Dioctofimose em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3, 2011.

TIOSSI, R.F.J.; DA COSTA, J.C.; MIRANDA, M.A.; PRAÇA, F.S.G.; MCCHESENEY, J.D.; BENTLEY, M.V.L.B.; BASTOS, J.K. In vitro and in vivo evaluation of the delivery of topical formulations containing glycoalkaloids of *Solanum lycocarpum* fruits. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, p.1-6, 2014.

TIWARI, A.; JADON, R.S.; TIWARI, P.; NAYAK, S. Phytochemical Investigations of Crown of *Solanum melongena* fruit. **International Journal of Phytomedicine**, V. 1, P. 9-11, 2009.

VIEIRA, F.M.; MUNIZ-PEREIRA, L.C.; SOUZA-LIMA, S.; ROCHA, B.M.; LUQUE, J.L. Parasitic nematodes of three species of wild carnivore mammals from Atlantic forest in the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 88, p. 801-806, 2017.

YANG, F.; ZHANG, W.; GONG, B.; YAO, L.; LIU, A.; LING, H. A human case of *Dioctophyma renale* (giant kidney worm) accompanied by renal cancer and a retrospective study of dioctophymiasis. **Parasite**, v.26, n.22, p.1-8, 2019.

ZAJÍCKOVÁ, M.; NGUYEN, L.T.; SKÁLOVÁ, L.; STUHLÍKOVÁ, L.R.; MATOUSKOVÁ, P. Anthelmintics in the future: current trends in the discovery and development of new drugs against gastrointestinal nematodes. **Drug Discovery Today**, 2019.

4 Considerações Finais

Em Pelotas e municípios vizinhos, foram identificados 240 cães e nove gatos com diotofimose em clínicas veterinárias e centros de diagnóstico da cidade, além do HCV-UFPeI no Capão do Leão. Os casos em cães e gatos corresponderam às maiores casuísticas já descritas da enfermidade atualmente, sendo 96,25% e 88,88% dos diagnósticos realizados em cães e gatos, respectivamente, entre 2010 e 2019.

A hematúria foi o sinal clínico mais observado entre os cães e gatos com diotofimose desse trabalho, assim como o meio diagnóstico mais utilizado foi o exame de ultrassom, destacando-se o rim direito e a cavidade abdominal como principais sítios de infecção de *D. renale*. Além disso, os animais parasitados apresentaram condição de vida domiciliada, semidomiciliada, e errante, sendo que grande parte deles foi adotada.

Embora menos frequente em filhotes, a diotofimose foi verificada em 10% dos cães com menos de um ano de vida, sendo este o maior registro da enfermidade nessa faixa etária.

Nos estudos das análises de urina após a remoção cirúrgica dos parasitos, e da coleta de dados em clínicas veterinárias particulares, centros de diagnóstico veterinário e HCV-UFPeI, observou-se que a maioria dos animais eram da espécie canina, sem raça definida, adultos, fêmeas e com histórico de acesso à rua por serem errantes, adotados e/ou semidomiciliados.

Na pesquisa de ovos de *D. renale* na urina de cães, observou-se eliminação de ovos antes da remoção cirúrgica dos parasitos do rim em todos os cães, e em 93,33% deles após a cirurgia, sendo detectados ovos até o 10º dia de coleta.

Ambos os extratos aquosos de *S. lycocarpum* apresentaram potencial anti-helmíntico maior que 99% em ovos de *D. renale* nos tratamentos testados, destacando-se o extrato EA1 a partir da concentração de 0,62 mg.mL⁻¹, e o extrato EA2 a partir da concentração de 1,25 mg.mL⁻¹.

Embora os extratos EA1 e EA2 tenham provocado a acidificação do meio aquoso, o pH ácido não interferiu no potencial de inibição de embrionamento dos ovos de *D. renale*.

Nenhum dos tratamentos testados em ovos de *D. renale* apresentou citotoxicidade em células MBDK nas concentrações avaliadas.

A citotoxicidade foi constatada apenas nas concentrações mais elevadas testadas, sendo elas de 20 mg.mL⁻¹ e 40 mg.mL⁻¹ no extrato EA1 e 40 mg.mL⁻¹ no extrato EA2.

Referências

ACHA, P.N.; SKYFRES, B. **Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals (Volume III – Parasitoses)**. 3^a ed. Washington: Pan American Health Organization, 2003. 395 p.

AGRAWAL, R.; KUMAR, P.; MISHRA, P.P.; GUPTA, R.; PREMI, H.K. *Diectophyma renale*: a chance finding on bladder catheterisation of a pregnant female. **Indian Journal of Medical Case Reports**, v.3, n. 1, p.70-72, 2014.

AL-OBAIDI, Q.T. Prevalence of internal helminthes in stray cats (*Felis catus*) in Mosul City, Mosul-Iraq. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 11, n. 15, p. 2732-2736, 2012.

ALVES, G.C.; SILVA, D.T.; NEVES, M.F. *Diectophyma renale*: o parasita gigante do rim. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n.8, 2007.

ANDRADE, A.F.; ALVEZ, J.M.; CORRÊA, M.B.; CUNHA, W.R.; VENEZIANI, R.C.S.; TAVARES, D.C. In vitro cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxicity assessment of *Solanum lycocarpum* hydroalcoholic extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 11, p. 2786-2790, 2016.

ANJOS, F.S.; NIEDERLE, P.A.; CALDAS, N.V. Pluriatividade e pesca artesanal: o caso da Colônia Z-3 em Pelotas, RS. **Sociedade em debate**, Pelotas, v.10, n.3, p.9-42, 2004.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução - RDC nº 10, de 9 de março de 2010. 2010. Disponível em: <http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/resolucao10_09_03_10.pdf> Acesso em: 07 fev. 2020.

BACH, F.S.; KLAUMANN, P.R.; FERREIRA, F.M. Paraparesis secondary to erratic migration of *Diectophyma renale* in a dog. **Ciência Rural**, v.46, n.5, p.885-888, 2016.

BAILÃO, E.F.L.C.; DEVILLA, I.A.; CONCEIÇÃO, E.C.; BORGES, L.L. bioactive compounds found in brazilian cerrado fruits. **International Journal of Molecular Sciences**, v.16, p.23760-23783, 2015.

BLANKEMEYER, J.T.; MCWILLIAMS, M.L.; RAYBURN, J.R.; WEISSENBERG, M.; FRIEDMAN, M. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. **Food and Chemical Toxicology**, v.36, p.383-389, 1998.

BORBA, H.R.; FREIRE, R.B.; ALBUQUERQUE, A.C.; CARDOSO, M.E.O.; BRAGA, I.G.; ALMEIDA, S.T.P.; FERREIRA, M.J.C.; FERNANDES, G.L.T.; CAMACHO, A.C.L.F.; LIMA, R.C.; ALMEIDA, A.C.C.; MATTOS, D.M.M.; DUARTE, R.M.; NASCIMENTO, S.F.; FRAMIL, R.A.; DIRÉ, G.F. Anthelmintic comparative study of *Solanum lycocarpum* St. Hill extracts in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. **Nature and Science**, v.8, n.4, p.95-100, 2010.

BOWMAN, D.D. **Georgis' Parasitology for Veterinarians**. 10^a ed. Maryland Heights, MO: Elsevier Saunders, 2013, 499 p.

BRUNNER, C.B.; SCHEID, H.V.; VENANCIO, F.R.; LIMA, J.L.F.; FACCINI, L.S., SALLIS, E.S.V.; RAFFI, M.B. *Dioctophyme renale* in wandering dogs in Pelotas, South of Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.31, n.1, e016821, 2022.

BURGOS, L.; ACOSTA, R.M.; FONROUGE, R.D.; ARCHELLI, S.M.; GAMBOA, M.I.; LINZITTO, O.R.; LINZITTO, J.P.; OSEN, B.A.; RADMAN, N.E. Prevalence of a zoonotic parasite, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782), among male canines in a wild riverside area of la plata river, province of Buenos Aires, Republic of Argentina. **Revista de Patologia Tropical**, v.43, n.4, p.420-426, 2014.

BUTTI, M.J.; GAMBOA, M.I.; TERMINIELLO, J.D.; FRANCHINI, G.R.; GIORELLO, A.N.; MALDONADO, L.L.; KAMENETZKY, L.; LUNA, M.F.; LOPEZ MERLO, M. RADMAN, N.E. *Dioctophyme renale* in a domestic cat (*Felis catus*): renal location and nephrectomy. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 18, p. 1-5, 2019.

CAMARGO, M.C.; ARRUDA, P.M.; PARIZOTTO, L.H.; GALINDO, C.M.; MATTEI, V.; GRANEMANN, M.C. Localizações ectópicas de *Dioctophyma renale* em cães, gatos e quatis em Santa Catarina. **Archives of Veterinary Science**, v.18, n.3, p.655-656, 2013.

CAPELLA, G.A.; RAPPETI, J.C.S.; PINHEIRO, N.B.; PERERA, S.C.; DE MOURA, M.Q.; CLEFF, M.B.; DA COSTA, C.M.; STROTHMANN, A.L.; WEEGE, G.B.; MASCARENHAS, C.S.; BERNE, M.E.A. An evaluation of techniques to diagnose *Dioctophyme renale* in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.46, e006423, 2024.

CAYE, P.; MILECH, V.; LIMA, C.S.; BRAGA, F.V.A.; DURANTE, L.H.; RAPPETI, J.C.S. *Dioctophyme renale* na musculatura abdominal de um cão – relato de caso. **XIV Congresso Paulista de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (CONPAVEPA)**, São Paulo, 2015.

CAYE, P.; RAPPETI, J.C.S.; PERERA, S.C.; VIVES, P.S.; BRAGA, F.V.A.; CLEFF, M.B.; MEINERZ, A.R.; CAVALCANTI, G.A.O.; MILECH, V.; ANTUNES, B.N.; MÜLLER, D.C.M.; BRUN, M.V. Nephrectomy in 52 dogs for the treatment of *Dioctophyme renale* infection – Knowing the enemy to win. **Topics in Companion Animal Medicine**, v.58, 100828, 2024.

CHAUHAN, S.; KAVAL, S.; TEWARI, S. Diotrophymiasis: a rare case report. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v.10, n.2, p.1-2, 2016.

CORADI, P.C.; FIA, R.; RAMIREZ, O.P. Avaliação da qualidade da água superficial dos cursos de água do município de Pelotas-RS, Brasil. **Revista Ambiente e Água**, v.4, n.2, p.46-56, 2009.

CORREIA, A.D.; ABREU, C.M.P.; SANTOS, C.D.; RIBEIRO, L.J. Constituintes químicos da fruta-do-lobo (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante a maturação. **Ciência e Agrotecnologia**, v.24, n.1, p.130-135, 2000.

COTTAR, B.H.; DITTRICH, G.; FERREIRA, A.A.; CARVALHO, A.C.P.; ALBERNAZ, V.G.P.; LUZ, M.T.; TASQUETI, U.I. Achados ultrassonográficos de cães parasitados por *Dioctophyma renale* – estudo retrospectivo. **Veterinária e Zootecnia**, v.19, p.8-11, 2012.

DALL'AGNOL, R.; LINO VON POSER, G. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.337-341, 2000.

DIAS, E.A.N.L.; CAVALCANTI, G.A.O.; SANCHES, M.C.; MARONEZE, B.P.; CAYE, P.; ZANIN, M.; JUNIOR, F.; GAUSMANN, V.; BRAGA, F.A.; RAPPETI, J.C.S. Multiparasitismo por *Dioctophyme renale*: relato de caso. **16ª Mostra da Produção Universitária**, Rio Grande, 2017.

ECHENIQUE, J.V.Z.; SOARES, M.P.; MASCARENHAS, C.S.; BANDARRA, P.M.; QUADROS, P.; DRIEMEIER, D.; SCHILD, A.L. *Lontra longicaudis* infected with canine parvovirus and parasitized by *Dioctophyma renale*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 9, p. 1844-1848, 2018.

EICKE, B.; ZANETTI, K.; REGINALDO, A.S.; SILVA, J.; SILVA, D.K.M.; SANTOS, G.A.; LOPES, B.A.; BRAZ, P.H. *Dioctophyma renale* in a patient living in Mato Grosso do Sul. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.4, p.282-285, 2014.

EIRAS, J.; ZHU, X.Q.; YURLOVA, N.; PEDRASSANI, D.; YOSHIKAWA, M.; NAWA, Y. *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda, Dioctophymidae) parasitic in mammals other than humans: a comprehensive review. **Parasitology International**, v.81, Suppl.1: 102269, 2021.

EMBRAPA (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária). Resumos mensais. 2018. Disponível em: <http://agromet.cpact.embrapa.br/online/Resumos_Mensais.htm> Acesso em: 25 fev. 2018.

FARIA, B.M.; PEREIRA, K.F.; LEÃO, A.P.; PONTES, N.S.; GÓES, D.C.C.; GUIMARÃES, C.D.O.; PEREIRA, K.F.; AMORIM, B.S.; COUTINHO, L.N. Diagnosis of *Dioctophyma renale* using ultrasonography and microscopy – A case report. **Veterinária em Foco**, v. 14, n. 2, p. 48-53, 2017.

- FARINA, F.; PIASSI, F.G.; MOYSÉS, M.R.; BAZZOLLI, D.M.S.; BISSOLI, N.S. Glycemic and urinary volume responses in diabetic mellitus rats treated with *Solanum lycocarpum*. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v.35, p.40-44, 2010.
- FELFILI, J.M.; SILVA JR., M.C.; REZENDE, A.V.; MACHADO, J.W.B.; WALTER, B.M.T.; SILVA, P.E.N.; HAY, J.D. Análise comparativa da florística e fitossociologia da vegetação arbórea do cerrado *sensu stricto* na Chapada Pratinha, DF-Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.6, n.2, p.27-46, 1992.
- FERREIRA, V.L.; MEDEIROS, F.P.; JULY, J.R.; RASO, T.F. *Diocetophyma renale* in a dog: clinical diagnosis and surgical treatment. **Veterinary Parasitology**, n.168, p.151-155, 2010.
- FIGUEIREDO, M.A.P.; SILVA, D.F.; MANRIQUE, W.G.; SOUSA, A.A.R. Ciclo errático de *Diocetophyma renale*: relato de dois casos. **Revista Orinoquia**, Villavicencio, v.17, n.1, p.96-101, 2013.
- FRANCO, P.A.; ANDRADE, A.L.S.; ALÉSSIO, B.C.; LOUBET, S.; MARTINS, A.M.Q. Infecção extrarenal de *Diocetophyma renale* (Goeze, 1782) em gato de Campo Grande, Mato Grosso do Sul – Relato de caso. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, Supl. 1, p. 275-277, 2013.
- GIORELLO, A.N.; KENNEDY, M.W.; BUTTI, M.J.; RADMAN, N.E.; CÓRSICO, B.; FRANCHINI, G.R. Identification and characterization of the major pseudocoelomic proteins of the giant kidney worm, *Diocetophyme renale*. **Parasites & Vectors**, v.10, n.446, p.1-11, 2017.
- GONZÁLEZ, Félix H. Diaz; SILVA, Sérgio Ceroni. **Patologia Clínica Veterinária: texto introdutório**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008. 342 p.
- HAJIALILO, E.; MOBEDI, I.; MASOUD, J.; HASANPOUR, H.; MOWLAVI, G. *Diocetophyme renale* in *Vulpes vulpes* from the Caspian Sea littoral of Iran. **Iranian Journal of Public Health**, v. 44, n. 5, p. 698-700, 2015.
- HALLAL, M.O.C.; SCHÖFFEL, E.R.; BRIXNER, G.F.; RADÜNZ, A.L. Estimativa da evapotranspiração de referência e sua relação com a precipitação ocorrida na região de Pelotas – RS. **Irriga**, v.18, n.1, p.85-98, 2013.
- HERNÁNDEZ-RUSSO, Z.H.; RIZZARDINI, E.S.; NUÑEZ, C.S.; MONTE, F.N.N. *Diocetophyma renale* en caninos (*Canis familiaris*) de Uruguay. **Neotropical Helminthology**, v.8, n.1, p.123-130, 2014.
- KANO, F.S.; SHIMADA, M.T.; SUZUKI, S.N.; OSAKI, S.C.; MENARIM, B.C.; RUTHES, F.R.V.; LAIDANE FILHO, M.A. Ocorrência de diocetofimose em dois cães no município de Guarapuava – PR. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.24, n.1, p.177-180, 2003.

KOMMERS, G.D.; ILHA, M.R.S.; BARROS, C.S.L. Dioctofimose em cães: 16 casos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.3, p.517-522, 1999.

LI, G.; LIU, C.; LI, F.; ZHOU, M.; LIU, X.; NIU, Y. Fatal bilateral dioctophymatosis. **Journal of Parasitology**, v.96, n.6, p.1152-1154, 2010.

LIMA, C.S.; MURAKAMI, V.; NAKASU, C.C.T.; MILECH, V.; DURANTE, L.H.; PERERA, S.C.; CLEFF, M.B.; RAPPETI, J.C.S.; CRIVELLENTI, L.Z. *Dioctophyme renale* o verme gigante do rim: revisão de literatura. **Revista Investigação Medicina Veterinária**, v. 15, n. 4, p. 37-41, 2016.

LISBOA, A. Estrongilose renale humana. **Brasil-Médico**, p. 23-24, 1945.

LUZ, M.T.; ALBERNAZ, V.G.P.; LUCINA, S.B.; FREITAG, F.A.G.; TASQUETI, U.I. Hidronefrose associada à infecção por *Dioctophyma renale* em um cão – relato de caso. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.12, Supl.1, p.44-45, 2014.

MACE, T.F.; ANDERSON, R.C. Development of the giant kidney worm, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Dioctophymatoidea). **Canadian Journal of Zoology**, v. 53, p. 1552-1568, 1975.

MAHMOUD, T.S.; MARQUES, M.R.; PESSOA, C.O.; LOTUFO, L.V.C.; MAGALHÃES, H.I.F.; MORAES, M.O.; LIMA, D.P.; TININIS, A.G.; OLIVEIRA, J.E. In vitro cytotoxic activity of Brazilian Middle West plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.21, n.3, p.456-464, 2011.

MANS, D.R.A.; BEERENS, T.; MAGALI, I.; SOEKHOE, R.; SCHOONE, G.J.; OEDAIRADJSINGH, K.; HASRAT, J.A.; VANDENBOGAART, E.; SCHALLIG, H.D.F.H. In vitro evaluation of traditionally used Surinamese medicinal plants for their potential anti-leishmanial efficacy. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 180, p. 70-77, 2016.

MARTINS, G.Z.; MOREIRA, R.R.D.; PLANETA, C.S.; ALMEIDA, A.E.; BASTOS, J.K.; SALGUEIRO, L.; CAVALEIRO, C.; SOUSA, M.C. Effects of the extract and glycoalkaloids of *Solanum lycocarpum* St. Hill on *Giardia lamblia* trophozoites. **Pharmacognosy Magazine**, v.11, n.42, p.161-165, 2015.

MASCARENHAS, C.S.; HENZEL, A.B.D.; CORRÊA, F.; ROBALDO, R.B.; MÜLLER, G. Third-stage larvae of *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in (Hancock, 1828) (Siluriformes: Callichthyidae) from Southern Brazil. **Neotropical Helminthology**, v.10, n.1, p.135-138, 2016.

MASCARENHAS, C.S.; HENZEL, A.B.; MÜLLER, G. Larvae of *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) and *Contracaecum* sp. (Nematoda: Anisakidae) in freshwater turtles (Testudines: Chelidae) from Southern Brazil. **Neotropical Helminthology**, v.11, n.1, p.61-67, 2017.

MASCARENHAS, C.S.; MÜLLER, G.; MACEDO, M.R.P.; HENZEL, A.B.D.; ROBALDI, R.B.; CORRÊA, F. The role of freshwater fish in the life cycle of *Diectophyme renale* in Southern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.16, 2019.

MASCARENHAS, C.S.; MÜLLER, G. Third-stage larvae of the enoplid nematode *Diectophyme renale* (Goeze, 1782) in the freshwater turtle *Trachemys dorbignii* from southern Brazil. **Journal of Helminthology**, p.1-6, 2014.

MASCARENHAS, C.S.; PEREIRA, J.V.; MÜLLER, G. Occurrence of *Diectophyme renale* larvae (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in a new host from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.27, n.4, p.609-613, 2018.

MEASURES, Lena N. **Diectophymatosis**. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2^a ed. Iowa: Iowa State University Press, 2001. p. 357-364.

MESQUITA, L.R.; RAHAL, S.C.; FARIA, L.G.; TAKAHIRA, R.K.; ROCHA, N.S.; MAMPRIM, M.J.; OLIVEIRA, H.S. Pre- and post-operative evaluations of eight dogs following right nephrectomy due to *Diectophyme renale*. **Veterinary Quarterly**, p.1-5, 2014.

MESSIAS, M.C.T.B.; MENEGATTO, M.F.; PRADO, A.C.C.; SANTOS, B.R.; GUIMARÃES, M.F.M. Uso popular de plantas medicinais e perfil socioeconômico dos usuários: um estudo em área urbana em Ouro Preto, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Campinas, v.17, n.1, p.76-104, 2015.

MEYER, S.N.; ROSSO, M.; MAZA, Y.E. Hallazgo de *Diectophyme renale* em la cavidad torácica de un canino. **Revista Veterinaria**, v.24, n.1, p.63-65, 2013.

MILECH, V.; CAYE, P.; ANTUNES, B.N.; RAPPETI, J.C.S.; PERERA, S.C.; GEHRCKE, M.I.; SANTOS, T.C.; CONTE, C.; VARGAS ARIGONY BRADA, F.; OLIVEIRA CAVALCANTI, G.A.; BRUN, M.V. Laparoscopic nephron-sparing surgery for the treatment of canine diectophymosis. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.84, n.4, p.618-623, 2022.

MILECH, V.; PERERA, S.C.; RAMOS, S.; PEDROZO, J.C.S.R.; BRAGA, F.V.A. Achado acidental de diectofimose durante procedimento cirúrgico em um canino – relato de caso. **21º Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2012.

MIRANDA, Mariza Abreu. **Avaliação do potencial antiparasitário do extrato alcaloídico e de alcaloides esteroidais dos frutos de *Solanum lycocarpum* A. St.-Hil.** 2010. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

MIRANDA, M.A.; KUEHN, C.C.; CARDOSO, J.F.R.; OLIVEIRA, L.G.R.; MAGALHÃES, L.G.; TIOSSI, R.F.J.; RODRIGUES, V.; ZUCOLLOTO, S.; PRADO JR., J.C.; MCCHESENEY, J.D.; BASTOS, J.K. Immunomodulatory effect of the

alkaloidic extract of *Solanum lycocarpum* fruits in mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Experimental Parasitology**, v.133, p.396-402, 2013.

MIRANDA, M.A.; MAGALHÃES, L.G.; TIOSSI, R.F.J.; KUEHN, C.C.; OLIVEIRA, L.G.R.; RODRIGUES, V.; MCCHESENEY, J.D.; BASTOS, J.K. Evaluation of the schistosomicidal activity of the steroidal alkaloids from *Solanum lycocarpum* fruits. **Parasitology Research**, v.111, p.257-262, 2012.

MONTEIRO, S.G.; SALLIS, E.S.V.; STAINKI, D.R. Infecção natural por trinta e quatro helmintos da espécie *Diocetophyma renale* (Goeze, 1782) em um cão. **Revista da FZVA**, Uruguiana, v.9, n.1, p.95-99, 2002.

MOREIRA, R.R.D.; MARTINS, G.Z.; MAGALHÃES, N.O.; ALMEIDA, A.E.; PIETRO, R.C.L.R.; SILVA, F.A.J.; CICALLELLI, R.M.B. *In vitro* trypanocidal activity of solamargine and extracts from *Solanum palinacanthum* and *Solanum lycocarpum* of brazilian cerrado. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.85, n.3, p.903-907, 2013.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOTTA-JUNIOR; José Carlos; MARTINS, Karina. The frutivorous diet of the maned wolf, *Chrysocyon brachyurus*, in Brazil: ecology and conservation. In: LEVEY, Douglas J.; SILVA, Wesley R.; GALETTI, Mauro. **Seed Dispersal and Frugivory: Ecology, Evolution and Conservation**. Rio Quente: CABI, 2002. p. 291-303.

MOURA, T.M.; OLIVEIRA, G.C.X.; CHAVES, L.J. Correlação entre floração, frutificação e variáveis ambientais em *Solanum lycocarpum*. A. St. Hil, Solanaceae. **Bioscience Journal**, v. 26, n. 3, p. 457-462, 2010.

MUNARI, C.C.; OLIVEIRA, P.F.; CAMPOS, J.C.L.; MARTINS, S.P.L.; DA COSTA, J.C.; BASTOS, J.K.; TAVARES, D.C. Antiproliferative activity of *Solanum lycocarpum* alkaloidic extract and their constituents, solamargine and solasonine, in tumor cell lines. **Journal of Natural Medicines**, v. 68, p. 236-241, 2014.

OLIVEIRA JUNIOR, E.N.; SANTOS, C.D.; ABREU, C.M.P.; CORRÊA, A.D.; SANTOS, J.Z.L. Alterações pós-colheita da “fruta-de-lobo” (*Solanum lycocarpum* St. Hil.) durante o amadurecimento: análises físico-químicas, químicas e enzimáticas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.26, n.3, p.410-413, 2004.

PARAS, K.L.; MILLER, L.; VEROCAI, G. Ectopic infection by *Diocetophyme renale* in a dog from Georgia, USA, and a review of cases of ectopic diocetophymosis in companion animals in the Americas. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.14, p.111-116, 2018.

PARK, H.Y.; SEO, J.W.; LEE, B.H.; LEE, J.Y.; KIM, S.Y.; CHA, S.J.; KIM, Y.H.; HWANG, Y.J.; KIM, Y.S. Simultaneous occurrence of malignant fibrous histiocytoma of the ureter and *Diocetophyma renale* infection: a case report. **Journal of the Korean Society of Radiology**, v.68, n.5, p.411-415, 2013.

PEDRASSANI, Daniela. **Aspectos morfológicos, imunológicos e epidemiológicos do *Diectophyma renale* em cães no distrito de São Cristóvão, Três Barras, Santa Catarina.** 2009. 118 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Jaboticabal, 2009.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. *Diectophyma renale*: prevalence and risk factors of parasitism in dogs of São Cristóvão district, Três Barras county, Santa Catarina State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.39-46, 2017.

PEDRASSANI, D.; HOPPE, E.G.L.; AVANCINI, N.; NASCIMENTO, A.A. Morphology of eggs of *Diectophyma renale* Goeze, 1782 (Nematoda: Diectophymatidae) and influences of temperature on development of first-stage larvae in the eggs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 15-19, 2009a.

PEDRASSANI, D.; HOPPE, E.G.L.; TEBALTI, J.H. NASCIMENTO, A.A. *Chaunus ictericus* (Spix, 1824) as paratenic host of the giant kidney worm *Diectophyma renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) in São Cristóvão district, Três Barras county, Santa Catarina state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.74-77, 2009b.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A.; ANDRÉ, M.R.; MACHADO, R.Z. Improvement of an enzyme immunosorbent assay for detecting antibodies against *Diectophyma renale*. **Veterinary Parasitology**, v.212, p.435-438, 2015.

PEDRASSANI, D.; NASCIMENTO, A.A. Verme gigante renal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, p.30-37, 2015.

PEDRASSANI, D.; WENDT, H.; RENNAU, A.; PEREIRA, S.T.; WENDT, S.B.T. *Diectophyma renale* Goeze, 1782 in a cat with a supernumerary kidney. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 109-117, 2014.

PEREIRA, B.J.; GIRARDELLI, G.L.; TRIVILIN, L.O.; LIMA, V.R.; NUNES, L.C.; MARTINS, I.V.F. Ocorrência de diectofimose em cães do município de Cachoeiro do Itapemirim, Espírito Santo, Brasil, no período de maio a dezembro de 2014. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.123-125, 2006.

PERERA, S.C.; CAPELLA, G.A.; PINTO, N.B.; RAPPETI, J.C.S.; MÜLLER, G.; AZAMBUJA, R.H.M.; GIORDANI, C.; CLEFF, M.B. First isolation of *Diectophyma renale* eggs from na urban environment and identification of those from animal urine. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.89-91, 2017a.

PERERA, S.C.; MASCARENHAS, C.S.; CLEFF, M.B.; MÜLLER, G.; RAPPETI, J.C.S. **Diectophimosis: a parasitic zoonosis of public health importance.** In: Santos HMC. *Translational Urinomics*. 1ª ed. Cham: Springer Nature Switzerland AG, 2021. P. 129-142.

PERERA, S.C.; RAPPETI, J.C.S.; MILECH, V.; BRAGA, F.A.; CAVALCANTI, G.O.; NAKASU, C.C.; DURANTE, L.; VIVES, P.; CLEFF, M.B. Eliminação de *Dioctophyme renale* pela urina em canino com dioctofimatoze em rim esquerdo e cavidade abdominal – Primeiro relato no Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.69, n.3, p.618-622, 2017b.

PESENTI, T.C.; MASCARENHAS, C.S.; KRÜGERL, C.; SINKOC, A.L.; ALBANO, A.P.N.; COIMBRA, M.A.A.; MÜLLER, G. *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782) collet-meygret, 1802 (Diotophymatidae) in *Galictis cuja* (Molina, 1782) (Mustalidae) in Rio Grande do Sul, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 6, n. 2, p. 301-305, 2012.

PINTO, L.V.A.; SILVA, E.A.A.; DAVIDE, A.C.; JESUS, V.A.M.; TOOROP, P.E.; HILHORST, H.W.M. Mechanism and controlo of *Solanum lycocarpum* seed germination. **Annals of Botany**, v.100, p.1175-1187, 2007.

PINTO, N.B.; CASTRO, L.M.; AZAMBUJA, R.H.M.; CAPELLA, G.A.; MOURA, M.Q.; TERTO, W.D.; FREITAG, R.A.; JESKE, S.T.; VILLELA, M.M.; CLEFF, M.B.; LEITE, F.P.L. Ovicidal and larvicidal potential of *Rosmarinus officinalis* to control gastrointestinal nematodes of sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 28, n. 4, p. 807-811, 2019.

PIZZINATTO, F.D.; FRESCHI, N.; SÔNEGO, D.A.; STOCCO, M.B.; DOWER, N.M.B.; MARTINI, A.C.; SOUZA, R.L. Parasitismo por *Dioctophyma renale* em cão: aspectos clínico-cirúrgico. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, Suppl. 1, p. 1-7, 2019.

RABINOWITZ, P.M.; KOCK, R.; KACHANI, M.; KUNKEL, R.; THOMAS, J.; GILBERT, J.; WALLACE, R.; BLACKMORE, C.; WONG, D.; KARESH, W.; NATTERSON, B.; DUGAS, R.; RUBIN, C. Toward Proof of Concept of a One Health Approach to Disease Prediction and Control. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 12, 2013.

RADMAN, N.E.; GAMBOA, M.I.; BUTTI, M.J.; BLANCO, M.; RUBE, A.; TERMINIELLO, J.; OSEN, B.A.; BURGOS, L.; CORBALÁN, V.; PALADINI, A.; ACOSTA, R.M.; EUGUI, J.I.R.; BORRELLI, S.; BRUSA, M.; MARTINO, P. Occurrence of dioctophymosis in canines within a riparian zone of the Río de La Plata watercourse, in Ensenada, Buenos Aires Province, Argentina. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.10, p.43-50, 2017.

RAHAL, S.C.; MAMPRIM, M.J.; OLIVEIRA, H.J.; MESQUITA, L.R.; FARIA, L.G.; TAKAHIRA, R.K.; MATSUBARA, L.M.; AGOSTINHO, F.S. Ultrasonographic, computed tomographic, and operative findings in dogs infested with giant kidney worms (*Dioctophyma renale*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.244, n.5, p.555-558, 2014.

RAPPETI, J.C.S.; MASCARENHAS, C.S.; S.C.; MÜLLER, G.; GRECCO, F.B.; SILVA, L.M.S.; SAPIN, C.F.; RAUSCH, S.F.; CLEFF, M.B. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.26, n.1, p.119-121, 2017.

REGALIN, B.D.C.; TOCHETO, R.; COLODEL, M.M.; CAMARGO, M.C.; GAVA, A.; OLESKOVICZ, N. *Dioctophyma renale* em testículo de cão. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.44, Suppl 1, Pub.148, p.1-4, 2016.

ROCHA, D.A.; ABREU, C.M.P.; SOUSA, R.V.; CORRÊA, A.D.; FONSECA, E.W.N. Avaliação preliminar *in vivo* do efeito hipocolesterolêmico do povilho da fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum* A. St.-Hil). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.2, p.362-369, 2012.

ROCHA, João Gilvan. **Farmacopéia Brasileira**. 4^a ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 392p.

RODRIGUES, F.H.G.; HASS, A.; LACERDA, A.C.R.; GRANDO, R.L.S.C.; BAGNO, M.A.; BEZERRA, A.M.R.; SILVA, W.R. Feeding habits of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) in the brazilian cerrado. **Mastozoologia Neotropical**, v.14, n.1, p.37-51, 2007.

SALGADO, J.A.; SANTOS, C.P. Overview of anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes of small ruminants in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 1, p. 3-17, 2016.

SANTOS, E.F.; SETZ, E.Z.F.; GOBBI, N. Diet of the maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*) and its role in seed dispersal on a cattle ranch in Brazil. **Journal of Zoology**, v.260, p.203-208, 2003.

SANTOS, I.A.; SOUZA, F.J.M.A.; AKISUE, G.; COELHO, F.A.S.; COELHO, M.D.G. Avaliação da atividade ovicida e larvicida de dez extratos vegetais ante *Ancylostoma* ssp. **Revista Patologia Tropical**, v.42, n.2, p.209-216, 2013.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, LC.; CORRÊA, L.G.; RAPPETI, J.C.S.; DURANTE, L.C.; PERERA, S.C.; CLEFF, M.B.; GRECCO, F.B. Dioctofimatoze renal bilateral e disseminada em cão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.12, p.1499-1504, 2017b.

SAPIN, C.F.; SILVA-MARIANO, L.C.; PIOVESAN, A.D.; FERNANDES, C.G.; RAPPETI, J.C.S.; BRAGA, F.V.A.; CAVALCANTE, G.A.; ROSENTHAL, B.M.; GRECCO, F.B. Estudo Anatomopatológico de rins parasitados por *Dioctophyme renale* em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, Pun. 1441, p. 1-7, 2017a.

SILVA, C.C.; CAVALCANTI, G.A.O.; BRAGA, F.V.A.; GUIM, T.N.; GOMES, L.G.S.; RAPPETI, J.C.S. *Dioctophyme renale* parasitism in domestic cat in Rio Grande do Sul, Brazil – first reported case. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 4, p. 2215-2220, 2017.

SILVEIRA, C.S.; DIEFENBACH, A.; MISTIERI, M.L.; MACHADO, I.R.L.; ANJOS, B.L. *Dioctophyma renale* em 28 cães: aspectos clinicopatológicos e ultrassonográficos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.11, p.899-905, 2015.

SOUSA, A.A.R.; SOUSA, A.A.S.; COELHO, M.C.O.C.; QUESSADA, A.M.; FREITAS, M.V.M.; MORAES, R.F.N. Dioctofimose em cães. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 3, 2011.

STAINKI, D.R.; PEDROZO, J.C.S.R.; GASPAR, L.F.J.; ZANETTE, R.A.; SILVA, A.S.; MONTEIRO, S.G. Urethral obstruction by *Dioctophyma renale* in puppy. **Comparative Clinical Pathology**, v.20, p.535-537, 2011.

TIOSSI, R.F.J.; DA COSTA, J.C.; MIRANDA, M.A.; PRAÇA, F.S.G.; MCCHESENEY, J.D.; BENTLEY, M.V.L.B.; BASTOS, J.K. In vitro and in vivo evaluation of the delivery of topical formulations containing glycoalkaloids of *Solanum lycocarpum* fruits. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, p.1-6, 2014.

TIWARI, A.; JADON, R.S.; TIWARI, P.; NAYAK, S. Phytochemical Investigations of Crown of *Solanum melongena* fruit. **International Journal of Phytomedicine**, V. 1, P. 9-11, 2009.

TOKIWA, T.; UEDA, W.; TAKATSUKA, S.; OKAWA, K.; ONODERA, M.; OHTA, N.; AKAO, N. The first genetically confirmed case of *Dioctophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatida) in a patient with a subcutaneous nodule. **Parasitology International**, v.63, p.143-147, 2014.

TRINDADE, M.A.C.; MACEDO, M.R.P.; MULLER, G. *Dioctophyme renale* (Nematoda: Dioctophymatidae) in *Leopardus geoffroyi* (Carnivora: Felidae) in the Neotropical region. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.27, n.2, p.223-225, 2018.

TRINDADE, M.A.C.; PORTELA, P.R.; MASCARENHAS, C.S.; MACEDO, M.R.P.; MULLER, G. Larvas de *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) (Nematoda: Enoplida) em *Procyon cancrivorus* (Cuvier, 1798) (Carnivora: Procyonidae) no sul do Brasil. **Anais do XXI Encontro de Pós-Graduação da Universidade Federal de Pelotas**, Pelotas, 2019.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia Veterinária**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 1998. 273 p.

VAFAE ESLAHI, A.; KIA, E.B.; MOBEDI, I.; SHARIFDINI, M.; BADRI, M.; MOWLAVI, G. Road killed carnivores illustrate the status of zoonotic helminthes in Caspian Sea littoral of Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 12, n. 2, p. 230-235, 2017.

VEIGA, C.C.P.; OLIVEIRA, P.C.; FERREIRA, A.M.R.; AZEVEDO, F.D.; VIEIRA, S.L.; PAIVA, M.G.A. Dioctofimose em útero gravídico em cão – Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 3, p. 188-191, 2012.

VENKATRAJIAH, N.; KALBANDE, S.H.; RAO, G.V.N.; REDDY, V.C.; REDDY, S.H.; RAO, P.R.; BABU, K.; KEERTHI, A. Dioctophymatosis renalis in humans: first case report from India. **Journal of the Association of Physicians of India**, v.62, n.10, p.70-73, 2014.

VEROCAI, G.G.; MEASURES, L.N.; AZEVEDO, F.D.; CORREIA, T.R.; FERNANDES, J.I.; SCOTT, F.B. *Dioctophyme renale* (Goeze, 1782) in the abdominal cavity of a domestic cat from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 342-344, 2009.

VIDAL, M.C.; STACCIARINI-SERAPHIN, E.; CÂMARA, H.H.L.L. Crescimento de plântulas de *Solanum lycocarpum* St. Hil. (Lobeira) em casa de vegetação. **Acta Botanica Brasilica**, v.3, n.3, p.271-274, 1999.

VIEIRA, Everton. **Proposta de zoneamento ambiental para o município de Capão do Leão – RS**. 2004. 87 f. Dissertação (Mestrado em Geografia) – Centro de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

VIEIRA, F.M.; MUNIZ-PEREIRA, L.C.; SOUZA-LIMA, S.; ROCHA, B.M.; LUQUE, J.L. Parasitic nematodes of three species of wild carnivore mammals from Atlantic forest in the state of Minas Gerais, Brazil. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 88, p. 801-806, 2017.

ZAJÍCKOVÁ, M.; NGUYEN, L.T.; SKÁLOVÁ, L.; STUHLÍKOVÁ, L.R.; MATOUSKOVÁ, P. Anthelmintics in the future: current trends in the discovery and development of new drugs against gastrointestinal nematodes. **Drug Discovery Today**, 2019.

Anexos

Pelotas, 16 de novembro de 2015

De: M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA)

Para: Profa. Marlete Brum Cleff

Departamento de Clínicas Veterinária – Faculdade de Veterinária

Senhora Professora:

A CEEA analisou o projeto intitulado: **“Eficácia de extratos vegetais sobre parasitos de animais de companhia”**, processo nº23110.004390/2015-30, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, Subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino, sendo de parecer **FAVORÁVEL** a sua execução, pois está de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA).

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 4390-2015).

Vigência do Projeto: 16/11/2015 a 15/12/2017

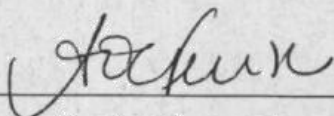
Espécie/Linhagem: Canina/SRD e Felina/SRD

Nº de animais: 200 (150 caninos e 50 felinos)

Idade: Variável

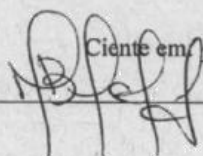
Sexo: Machos e Fêmeas

Origem: Hospital de Clínicas Veterinário – UFPel e Ambulatório Ceval - UFPel



M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix
Presidente da CEEA

Assinatura do Professor Responsável: _____



Ciente em 16/11/2015

Pelotas, 8 de fevereiro de 2018

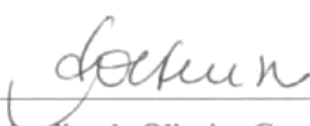
Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Estudo da eliminação de ovos de *Diotophyme renale* pela urina de animais parasitados e do nível de conhecimento da comunidade acadêmica sobre a dioctofimatoze**”, registrada com o nº 23110.009221/2017-58, sob a responsabilidade de **Marlete Brum Cleff** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de 05/02/2018.

Finalidade	(X) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	09/02/2018 a 31/12/2019
Espécie/linhagem/raça	Canina/SRD
Nº de animais	25
Idade	Variada
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Pacientes da rotina do HCV-UFPEL e da ONG A4 – Capão do Leão

Solicitamos, após tomar ciência do parecer, reenviar o processo à CEEA.

Salientamos também a necessidade deste projeto ser cadastrado junto ao COBALTO para posterior registro no COCEPE (código para cadastro nº CEEA 9221-2017).


M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA

Assinatura do Professor Responsável:

Ciente em: 06/02/2018

