

TÉCNICA PARA IDENTIFICAÇÃO DE OVOS DE *Diectophyma renale* EM URINA DE GATOS, EMPREGADA EM SILICA: RESULTADOS PRELIMINARES

TAINÁ ANÇA EVARISTO¹; BRUNA DOS SANTOS PIRES²; JOSAINÉ CRISTINA RAPPETI²; SOLIANE CARRA PERERA²; TATIANA DE ÁVILA ANTUNES²; ALEXSANDER FERRAZ³

¹Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – evaristo.medvet@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – bruspires@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – josainerappeti@yahoo.com.br

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – soliane.cp@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – tatdavila@bol.com.br

³Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – xanderferraz@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

O *Diectophyma renale* é considerado o maior nematelminto parasita de animais domésticos, conhecido como “verme gigante do rim”, ou ainda estrôngilo gigante. Apresenta como hospedeiros definitivos (HD) os canídeos (domésticos e silvestres), felinos, mamíferos silvestres, e, raramente, animais de produção, como bovinos, equinos e suínos. Além disso, é considerada uma zoonose, podendo desta forma, acometer o ser humano (VIEIRA et al., 2014).

Tem como hospedeiros intermediário (HI) anelídeos oligoquetas (*Lumbriculus variegatus*), que parasitam as brânquias de crustáceos. Ainda tem como parasitos paratênicos (HP), ou hospedeiros acidentais (HA), rãs, tartarugas e peixes de água doce (TAYLOR et al., 2010).

Geralmente o nematoide é encontrado parasitando o rim direito, mas pode ser observado parasitando o rim esquerdo, tecido subcutâneo, livre na cavidade abdominal, em glândula mamária, cavidade torácica, ureteres, bexiga e testículos (REGALIN et al., 2016; SILVEIRA et al., 2015)

O diagnóstico da parasitose pode ser realizado através da identificação de ovos do parasito fêmea na urina, através de técnicas laboratoriais e por exames de imagem como ultrassonografia (BOA VENTURA, 2016). Porém, ainda não há descrito na literatura nenhuma técnica laboratorial, seja qualitativa ou quantitativa, que identifique ovos do parasito em areia ou sílica, seja ambiental ou proveniente de tutores.

O experimento objetivou identificar uma técnica laboratorial qualitativa, de fácil aplicação e baixo custo, para identificação de ovos de *Diectophyma renale* em sílicas, comumente utilizadas em caixas de areias de felinos.

2. METODOLOGIA

No Hospital de Clínicas Veterinárias (HCV), da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL), foi realizada coleta de urina de animais parasitados por *D. renale*, sendo esta, exclusivamente de animais hospedeiros de parasitos fêmeas, visto que apenas estas eliminam ovos.

A urina contendo ovos do helminto, foi acondicionada em pote de coleta, armazenada em caixa de isopor isotérmica, com gelo retornável e encaminhada para posterior análise laboratorial no Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), situado na Faculdade de Veterinária (FaVet/UFPEL).

As técnicas utilizadas para pesquisa de ovos de *D. renale* foram: centrífugo-flutuação em solução hipersaturada glicosada, com duas densidades: 1.230 e

1.330; flutuação espontânea em solução hipersaturada glicosada, com duas densidades: 1.230 e 1.330 e centrifugo-sedimentação.

Amostras contendo 5 gramas de sílica foram distribuídas em potes plásticos, sendo adicionado em cada uma destas, 500 µl (0,5ml) de urina contendo ovos de *D. renale*. A urina adicionada em todas as amostras foi proveniente do mesmo animal.

A avaliação das amostras para identificação dos ovos foi realizada em diferentes tempos, distribuídos da seguinte forma: momento zero, 6 horas, 12 horas, 18 horas, 24 horas, 36 horas, 48 horas, 72 horas, 120 horas, 168 horas, 240 horas e 336 horas após infestação.

As amostras foram confeccionadas em triplicata para cada uma das técnicas e tempo, totalizando 180 amostras (36 para cada técnica). O resultado de cada técnica deu-se a partir da média das três amostras.

A técnica de centrifugo-flutuação consistiu na homogeneização de 5g de sílica contendo 500 µl de urina, com 15 ml de água destilada, este material foi tamizado para um copo plástico, sendo posteriormente transferido para um tubo de ensaio e centrifugado por cinco minutos. Os sedimentos foram ressuspensos com solução hipersaturada de açúcar (densidade de 1.230 e 1.330). Para promover a flutuação dos ovos, completou-se o volume do tubo até a formação de um menisco, para a colocação de uma lamínula 18x18, ficando em repouso por 20 minutos. A leitura foi realizada em microscopia óptica sob objetiva de 10X

A técnica de flutuação espontânea foi executada a partir da homogeneização de 5g de sílica contendo 500 µl de urina contaminada e 25 ml de solução hipersaturada de açúcar (duas densidades diferentes), o material foi tamizado para um copo plástico e transferido para um tubo de ensaio até a formação de um menisco. Após este processo, colocou-se uma lamínula de vidro sobre a solução por 20 minutos, pois o princípio da técnica, consiste que os ovos do nematoide flutuam pela diferença de densidade. A análise foi realizada em microscopia óptica com aumento de 10x.

A centrifugo-sedimentação foi realizada primeiramente com a homogeneização de 5g de sílica contendo 500 µl de urina e 15 ml de água destilada, tamização do material para um copo plástico e transferência para um tubo de ensaio e centrifugação por 5 minutos. Ao final do processo, pipetou-se o sedimento em lâmina, sobrepondo-se uma lamínula. A observação do material foi realizada em microscopia óptica com aumento de 10x.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A técnica de centrífugo-sedimentação por concentrar grande quantidade de ovos apresentou o melhor resultado, sendo possível identificar ovos morfológicamente viáveis de *D. renale* durante os 14 dias de análise.

O *D. renale*, como a maioria dos nematoides, apresenta ovos com densidade baixa, o que os permite flutuarem em relação a diferença de densidade das soluções hipersaturadas utilizadas no experimento. Por este motivo, a técnica de flutuação espontânea apresentou resultado significativo, possibilitando a identificação de ovos de *D. renale* em todas as análises, porém com menor taxa de ovos quando comparado com a técnica de centrífugo-sedimentação.

PEDRASSANI (2009) relata que estudos relacionados com a morfologia dos ovos do parasito, a influência de temperatura para o desenvolvimento larval, a presença de formas larvais em hospedeiros paratênicos e a padronização de técnica para detecção de anticorpos para classe IgG, contra antígenos somáticos

do parasito, em cães que albergam *D. renale*, se faz necessário para melhor conhecimento da dioctofimatoze.

A elaboração de uma técnica laboratorial qualitativa para identificar ovos de *D. renale* em sílica, vem de acordo com o que cita PEDRASSANI (2009), possibilitando um novo leque de diagnóstico para presença de ovos do parasito em materiais utilizados em caixas de excretas de felinos.

Ovos de *D. renale* em microscopia são elípticos, com coloração acastanhada, com parede espessa, rugosa e com um tampão bipolar. Possuem de um a duas células logo após serem eliminadas na urina, medindo de 73 a 83 µm de comprimento por 45 a 47 µm de largura (MEASURES, 2001). Todas estas características morfolo-tintoriais podem ser observadas após a realização da técnica de centrífugo-sedimentação e flutuação em solução hipersaturada com densidade de 1.250 miliosmoles, mesmo após sete dias da preparação do material.

4. CONCLUSÕES

Pode ser observado, como resultado preliminar, que a técnica qualitativa de centrífugo-sedimentação obteve a maior eficácia para identificar ovos de *Dioctophyma renale*, mesmo após o decorrer do tempo e da degradação ocorrente por fatores ambientais naturais nas amostras analisadas

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOAVENTURA, F. **Investigação sobre a prevalência de *dioctophyma renale* na população canina em Curitiba e região metropolitana. 2016. 56 f.** TCC (Graduação) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2016.

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, p.01-04, 2016

MEASURES, L. N. Dioctophymatosis. In: SAMUEL, W.M.; PYBUS, M.J.; KOCAN, A.A. **Parasitic Diseases of Wild Mammals**. 2 ed. Iowa State University Press: USA, 2001.

PEDRASSANI, D. **Aspectos morfológicos, imunológicos e epidemiológicos do *Dioctophyma renale* em cães no distrito de São Cristóvão, Três Barras, Santa Catarina**. 118 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2009

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. 35, n. 11, p. 899-905, 2015.

TAYLOR, M.A. Parasitas de cães e gatos: Parasitas do sistema reprodutor/urogenital. In: TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; R.L. WALL. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2010. Cap. 6. p. 363-364. Tradução de: **Veterinary parasitology**, 3rd ed.



VIEIRA, E. G. In: **ANAIS SIMPAC**, v. 6, n. 1, 2016. infecção por *Dioctophyma renale* com localização livre em cavidade abdominal de lobo-guará (*chrysocyon brachyurus*) - Relato de caso.