

POTENCIAL ANTI-HELMÍNTICO DO EXTRATO AQUOSO DE CPP4 EM OVOS DE *DIOCTOPHYME RENALE*

SOLIANE CARRA PERERA¹; GABRIELA DE ALMEIDA CAPELLA²; NATÁLIA BERNE PINHEIRO³; IVANDRA IGNÊS DE SANTI⁴, EDUARDA CAVALCANTI⁵, MARLETE BRUM CLEFF⁶

¹Programa de Pós-Graduação em Veterinária, UFPel – soliane.cp@hotmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, UFPel – capellavet@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, UFPel – nbernevet@gmail.com

⁴Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, UFPel – ivandra.santi@yahoo.com.br

⁵Graduanda em Medicina Veterinária, UFPel – nuneslouzadadias@gmail.com

⁶Departamento de Clínicas Veterinária, UFPel – marletecleff@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Dioctophyme renale é um nematódeo de distribuição mundial e popularmente conhecido como o “verme gigante do rim” por ser considerado o maior parasito do Filo Nematoda e ter o rim como órgão de eleição. A enfermidade decorrente do parasitismo é denominada dioctofimatose, podendo afetar animais domésticos e silvestres, e também humanos, caracterizando-se como uma zoonose (LIMA et al., 2016).

No ciclo de *D. renale*, os hospedeiros definitivos disseminam os ovos no ambiente através da urina. No meio aquático, ocorre o desenvolvimento da larva de primeiro estágio (L1) no interior dos ovos, sendo estes ingeridos pelo hospedeiro intermediário (anelídeo oligoqueta aquático), onde ocorre a evolução da larva até o estágio infectante (L3). Animais e humanos se contaminam a partir da ingestão direta do anelídeo ou de hospedeiros paratênicos como peixes e sapos infectados (MACE; ANDERSON, 1975; MEASURES; ANDERSON, 1985).

Os animais com dioctofimatose podem ser assintomáticos, mas quando apresentam sinais clínicos, estes são inespecíficos, podendo estar relacionados com hematúria e dor severa. O diagnóstico é feito pela observação de ovos nas amostras de urina dos animais parasitados, e também pela identificação dos helmintos através do exame de ultrassom abdominal. O tratamento de eleição é a remoção cirúrgica dos parasitos associada à nefrectomia, uma vez que o nematódeo causa a destruição do parênquima renal (PEDRASSANI; NASCIMENTO, 2015).

Devido à gravidade das lesões provocadas por *D. renale* no rim dos animais acometidos e por não haver tratamento medicamentoso eficaz, novas formas de controle da dioctofimatose devem ser pesquisadas. Uma opção interessante é o uso de plantas com potencial antiparasitário, uma vez que estudos com extratos vegetais tem demonstrado ação ovicida e larvicida em ovos de nematódeos de cães (AZAMBUJA, 2015; CAPELLA, 2017). No caso de *D. renale*, o uso de extratos vegetais poderia atuar na fase de desenvolvimento larval dos ovos, a fim de impedir a formação da L1 no seu interior após a sua eliminação pela urina no ambiente aquático, inviabilizando o ciclo do parasito. Portanto, o objetivo desse trabalho é apresentar um estudo inicial a fim de avaliar a atividade *in vitro* do extrato aquoso de CPP4 sobre a inibição de embrionamento de ovos de *D. renale*.

2. METODOLOGIA

Os ovos de *D. renale* foram obtidos a partir da urina de cães naturalmente parasitados (CEEA 4390-2015), e os frutos maduros da planta CPP4 foram colhidos no estado de Minas Gerais e encaminhados para o Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) para a preparação do extrato aquoso de acordo com as normas da Farmacopeia Brasileira IV (ROCHA, 1988). Foram utilizadas a casca e a polpa dos frutos maduros que passaram pelo processo de secagem em estufa a 37°C. Após, o material seco foi triturado e a extração feita com água destilada em equipamento de ultrassom. Em seguida, realizou-se a filtração do extrato e este foi congelado protegido da luz em ultrafreezer (-70°C) para posterior liofilização.

Os testes *in vitro* foram realizados em placas de microcultivo de 24 poços contendo, aproximadamente, 120 ovos de *D. renale* em cada poço, sendo realizadas diluições seriadas do extrato aquoso em três concentrações ($31,25 \text{ mg.mL}^{-1}$, $62,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ e 125 mg.mL^{-1}). O ensaio foi acompanhado de um controle negativo com água destilada e de um controle positivo com cloridrato de tiabendazol ($0,025 \text{ mg.mL}^{-1}$). Todas as concentrações foram testadas em quadruplicata, sendo as placas embaladas com filme plástico e incubadas em estufa B.O.D a 28°C por 28 dias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em nossos grupos de pesquisa na UFPel, diversos estudos têm sido desenvolvidos frente a microrganismos e células tumorais de importância veterinária com o uso de extratos vegetais, sendo muito deles relacionados a parasitos de ruminantes e animais de companhia (DIAS DE CASTRO et al., 2013; AZAMBUJA, 2015; CAPELLA, 2018). Nesses trabalhos, diferentes plantas da família Lamiaceae têm sido estudadas a fim de determinar o potencial anti-helmíntico com concentração viável e não tóxica. Sendo assim, no presente trabalho, buscou-se realizar um estudo inicial com a planta CPP4 por ela ser popularmente conhecida no auxílio do controle antiparasitário da dioctofimatose em lobos-guarás (LOPES, 2010), uma vez que o fruto proveniente desta planta é uma das principais fontes de alimento para esses animais (SANTOS et al., 2003).

Dessa forma, a partir do presente estudo, observou-se que os três tratamentos realizados apresentaram 100% de inibição de embrionamento de ovos de *D. renale*. O experimento foi validado ao ser analisado o controle negativo com água destilada estéril que apresentou uma elevada taxa de embrionamento (94,51%) dos ovos, o que indica uma boa viabilidade dos mesmos. Além disso, foi observado que o controle positivo com o anti-helmíntico apresentou potencial ovicida com uma inibição de embrionamento de 95,96%.

Os resultados obtidos apresentaram uma excelente ação do extrato aquoso de CPP4 frente a ovos de *D. renale*, o que já era esperado uma vez que diferentes extratos dessa planta já vêm demonstrando atividade anti-helmíntica em nematódeos. BORBA e colaboradores (2010) utilizaram extrato aquoso das folhas de CPP4 no nematódeo de camundongos *Aspiculuris tetrápтерa*, havendo redução significativa na eliminação de parasitos com o extrato a 10% e 20%. Ademais, MIRANDA (2010) observou a ação do extrato alcaloidíco de CPP4 contra *Strongyloides venezuelensis* nas concentrações de 2 mg.mL^{-1} e 1 mg.mL^{-1} , havendo

100% e 67% de mortalidade, respectivamente, após 72 horas de contato com o extrato.

Mesmo havendo alguns trabalhos com o uso de extratos vegetais de CPP4 em parasitos, os estudos ainda são escassos, principalmente envolvendo helmintos de animais domésticos, sendo que não existem estudos em *D. renale*. O conhecimento empírico a respeito dessa planta e a escassez de estudos científicos foram fatores determinantes para o desenvolvimento dessa pesquisa inicial. Assim, a partir dos resultados obtidos, acredita-se que os estudos devem ser aprofundados e realizados com um maior número de tratamentos a fim de determinar a mínima concentração eficaz.

4. CONCLUSÕES

A partir dos dados apresentados, é possível concluir que o extrato aquoso de CPP4 demonstrou resultados promissores com ação anti-helmíntica frente aos ovos de *D. renale* nesse estudo piloto, sendo necessário realizar novos testes a fim de verificar a atividade anti-helmíntica em menores concentrações.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZAMBUJA, R.H.M. **Prospecção dos óleos essenciais da família Lamiaceae sobre ovos de *Ancylostoma* spp.** 2015. 70f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas.

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.

CAPELLA, G.A. **Ambiente como fonte de formas parasitárias e potencial de extratos vegetais da família Lamiaceae contra parasitos do gênero *Toxocara*.** 2017. 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

DIAS DE CASTRO, L.L.; MADRID, I. AGUIAR, C.L.G.; CASTRO, L.M.; CLEFF, M.B.; BERNE, M.E.A.; LEITE, F.P.L. *Origanum vulgare* (Lamiaceae) ovicidal potential on gastrointestinal nematodes of castle. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.14, n.4, p.508-513, 2013.

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. *Diocophyllum renale* o verme gigante do rim: revisão de literatura. **Revista Investigação Medicina Veterinária**, v.15, n.4, p.37-41, 2016.

LOPES, C.M. **Facilitação por *Solanum lycocarpum* A. St-Hil. (Solanaceae) em área perturbada de cerrado sentido restrito em Brasília, DF.** 2010. 93f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade de Brasília.

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.

MEASURES, L.N.; ANDERSON, R.C. Centrarchid fish as paratenic hosts of the giant kidney worm, *Dioctophyma renale* (Goeze, 1782), in Ontario, Canada. **Journal of Wildlife Diseases**, v.21, n.1, p.11-19, 1985.

MIRANDA, M.A. **Avaliação do potencial antiparasitário do extrato alcaloídico e de alcaloides esteroidais dos frutos de Solanum lycocarpum A. St.-Hil.** 2010. 97f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

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

ROCHA, J.G. **Farmacopéia Brasileira**. São Paulo: Atheneu, 1988. 4^a ed.

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.