

TESTE DE EFICÁCIA ANTIPARASITÁRIA DE COMPOSTOS FARMACÊUTICOS SOB *Ancylostoma sp* E *Toxocara sp* EM MODELO *In vitro*.

GABRIELE DA COSTA OLIVEIRA¹; MIRIANE MENDES PEREIRA²; BRUNO CABRAL CHAGAS² ALEXSANDER FERRAZ²; MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE³

¹Universidade Federal de Pelotas – UFPel – gabriele.costamv@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - UFPel – mirimendes@hotmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – UFPel – brunocabral.chagas@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – UFPel – xanderferraz@yahoo.com.br

³Universidade Federal de Pelotas – UFPel – marcianobre@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Animais de companhia são frequentemente acometidos por parasitos que possuem potencial zoonótico, tal como o *Toxocara sp.* e *Ancylostoma sp.* (PAULA, 2021; SILVA, et. al 2022), que por sua vez, causam impactos significativo na saúde e bem estar desses animais. (SANTOS, et. al, 2013; LAATAMNA, et. al, 2021;).

Estes nematoides tem o potencial de afetar cães e gatos em diferentes fases do seu desenvolvimento e seu modo de infecção pode decorrer da via passiva (ingestão), transplacentária, transmamária, além da via ativa (percutânea) ser um relevante meio de contato com o *Ancylostoma sp* (DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2014; TAYLOR et. al, 2017). A infestação nos animais ocorre principalmente após o contato com o solo que contém fezes de animais parasitados (MELLO, et. al 2021). A vista disso, cenários ideias favorecem a disseminação dos helmintos su praticados, bem como o livre fluxo dos seus hospedeiros definitivos, protocolos antiparasitário negligenciados e condições de carência higiênico-sanitárias do ambiente (SCHWARTZ, 2021; MELLO, et.al. 2021; SILVA, et. al 2022).

A eliminação dos ovos no ambiente pelos seus hospedeiros definitivos, tem seu início com a maturação sexual dos parasitos no intestino delgado, que darão início a postura e deposição destes nas fezes. (TAYLOR et. al, 2017; FELIX, et. al, 2020). Os sinais clínicos e parâmetros laboratoriais são dependentes da carga parasitária presente, da patogenia do helminto, além do estado nutricional do animal e condição imunológica do mesmo. (TAYLOR, et. al., 2017)

As principais alterações clínicas encontradas podem variar desde um animal assintomático, da perda de peso progressiva decorrente da má absorção até quadros de obstrução intestinal, os animais que não apresentam sinais clínicos tem grande importância na disseminação dos helmintos. (ANTUNES, et. al 2019).

O exame coproparasitológico é de extrema importância, em razão de permitir a análise das fezes, o que possibilita a identificação dos ovos dos parasitos, sendo indispensável para o correto diagnóstico e direcionamento na escolha da terapêutica antiparasitária ideal. (LAATAMNA, et. al, 2021). Anti-helmínticos que contém produtos ativos múltiplos, são rotineiramente empregados na clínica médica de pequenos animais, com o intuito de verificar interações farmacodinâmicas desejadas, bem como o sinergismo, efeitos cumulativos, neutralidades e ações antagônicas, resultando em uma boa ação antiparasitária, sendo mais acertado nas escolhas terapêuticas e profiláticas por ter bons resultados (GUZMÁN (2019).

Dada a relevância do assunto e a alta casuísticas das endoparasitoses em cães e gatos, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito de uma redução de contagem de ovos em teste *in vitro* através do uso de fármacos em uma contaminação experimental de *Ancylostoma sp* e *Toxocara sp*.

2. METODOLOGIA

Para avaliação da eficácia *in vitro* foi utilizado o teste modificado de filtragem e recuperação de ovos segundo MINHO et al. (2015). Para a técnica, foi produzida uma alíquota filtrada e purificada de 100 ovos de *Ancylostoma* sp e 100 ovos de *Toxocara* sp., quantificada através da técnica de Mini Flotac®, obtida através de uma amostra coprológica infestada de cães. As amostras purificadas foram adicionadas em placas de 24 poços e submetidas ao teste com os compostos CA001 e CA002. Os produtos foram identificados como CA001 e CA002 para manter o sigilo das formulações. Também foram incluídos no teste, um controle negativo contendo água destilada e um controle positivo (antiparasitário comercial para cães e gatos). A placa foi alocada em uma estufa incubadora BOD com temperatura controlada (27°) e após 24 horas foi realizada uma avaliação parcial e a eficácia total determinada pela contagem total de estruturas em 48 horas. As estruturas avaliadas foram ovos, oocistos e larvas de primeiro estágio – L1 para obtenção da estimativa de eclodibilidade dos ovos bem como de eficácia dos produtos testados. Para obtenção da porcentagem de eficácia realizou-se o cálculo a seguir: Percentual de eficácia (%): $(L1 / (ovos + L1)) \times 100$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da eficácia do antiparasitário obtidos no controle positivo (CTRL+), para avaliar a redução dos ovos, foram de 89% para *Ancylostoma* sp. e 90% para *Toxocara* sp. Os valores da amostra CA001, quando comparado ao CTRL+ se mostrou moderadamente reduzido. Contudo, a amostra CA002 quando foi correlacionada ao CTRL+, mostrou valores de eficácia 100%, bem como é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados dos valores obtidos através do cálculo de porcentagem da eficácia.

Antiparasitário (mg/ml)	Índice de redução de ovos (%)	
	<i>Ancylostoma</i> sp.	<i>Toxocara</i> sp.
CA 001	77	83
CTRL +	89	90
CA 002	100	100

O benefício máximo de um anti-helmíntico, como verificado com a utilização do CA002, pode ser observado quando o fármaco administrado, é manuseado de acordo com as normas de um controle parasitário sustentável e possui em sua formulação compostos que tenham um potencial de controle biótico alto (TAYLOR et al., 2017). Além disso, LANUSSE (2018) e seus colaboradores sinalizam a importância de novas drogas anti-helmínticas para otimizar a farmacocinética e aumentar a exposição do parasito alvo para a melhor efetividade do tratamento, assim como ocorreu na amostra CA002.

Segundo GALVANI, et. al (2017) os anti-helmínticos podem ser usados de maneira terapêutica e profilática. A forma terapêutica deve atingir a fase patogênica do parasito e cessar os sinais clínicos, sendo não efetiva para todos os estágios. (TAYLOR et. al 2017). Já o método profilático pode ser escolhido conforme a epidemiologia sendo a forma mais preferível para a prevenção das helmintoses

(PAULA et. al 2018), sendo que os compostos CA001 e CA002 excelentes alternativas enquanto controle de formas parasitárias imaturas. Além disso, AMARANTE (2014) e seus colaboradores ainda ressaltam a importância do uso de combinações de múltiplos anti-helmínticos para aumentar seu espectro de ação.

A amostra CA001 mostrou-se com valores parcialmente reduzidos quando comparado ao controle positivo, todavia os resultados obtidos permanecem sendo favoráveis, posto que, existem diversos fatores que podem influenciar na sensibilidade de um parasito a um fármaco, como a resistência a determinada molécula (CENTURIÓN et. al., 2017). Segundo LANUNSSE et. al (2018), é de extrema importância compreender a ação de um fármaco no hospedeiro e a maneira como ele irá agir no parasito alvo. Visto que o potencial biótico (mutação) de um parasito é um fator crítico na ação e eficácia de um anti-helmíntico (FURTADO, 2018). Portanto, o correto diagnóstico e a identificação morfológica do parasito nas fezes são importantes para a escolha e direcionamento de um tratamento antiparasitário eficaz (PAULA, 2021).

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que os tratamento inovadores com CA001 e CA002 apresentaram ótimos valores de eficácia, sendo que o composto CA002 apresentou máxima redução dos ovos de *Ancylostoma sp* e *Toxocara sp*, porém, são necessários mais estudos afim de esclarecer possíveis interferências.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARANTE, A.F.T.; RAGOZO, A.M.A.; SILVA, B.F.; Anti-helmínticos. In: Os parasitas de ovinos. São Paulo, UNESP, 2014, p123-136
- ANTUNES, R.S.; MORAIS, A.F.; Correlação de alterações hematológicas em doenças parasitárias. Setor de Parasitologia Humana e Hematologia do Laboratório Sabin de Análises Clínicas – Núcleo Técnico Operacional (NTO), Brasília –DF, 2019.
- CENTURIÓN, G.; PORTILLO, M.; GALEANO, A.; MARTÍNEZ, B.; PORTILLO, L.; MIRET, J.; Estudo preliminar da resistência anti-helmíntica de nematoides gastrointestinais em ovinos no departamento de Canindeyú, Paraguai. Revista Acadêmica Ciência Animal, v15, n. Suppl 2, p 567-568, 2017.
- DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D.; Cães, gatos, parasitas e humanos no Brasilabrindo a caixa preta. **Parasitas e Vetores**, v7,22, 2014.
- FELIX, D.A.S.; SILVA, C.X.; GOMES, J.S.; DIAS, E.G.; FREITAS, J.S.; FERNANDES, L.E.S.; MENDES, T.M.; FARIAS, L.A. **PubVet** v14, p151, 2020.
- FURTADO, L.F.V.; **Polimorfismos envolvidos no processos de resistência aos benzimidazóis em ancilostomídeos**. 2018, tese de doutorado – Curso de pós graduação em parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas –ICB, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.
- GALVANI, G.D.; CRUZ, A.S.; PINELI, G.S.; SILVA, Y.T.; FRANCO, R.P.; MANHOSO, F.F.R. Revista Unimar Ciências, v24, n1-2, 2017.
- GUZMÁN, C.D.U.; Uso de antiparasitários gastrointestinales em clínicas veterinárias de pequeños animales em Tunja, Colombia. Cultura Científica, n17 p66-79, 2019.

- LAATAMNA, A.; BAROUDI, D.; SAMARI, H.; ZIANE, H.; ALIM, O.; TELIBI, M.; TAOUSSI, D. First report on occurrence of zoonotic helminth *Toxocara canis*, *Toxocara leonina* and *Ancylostoma caninum* in domestic dogs from province of Djelfa, Algeria. **Annals of Parasitology**. V67, n1, p11-116, 2021.
- LANUSSE, C.; CANTON, C.; VIRKEL, G. ALVAREZ, L.; COSTA-JUNIOR, L.; LIFSCHITZ, A. **Trends in Parasitology**. v32, p664-682, 2018.
- MELLO, C.C.S.; NIZOLI, L.Q.; FERRAZ, A.; CHAGAS, B.C.; AZARIO, W.J.D.; MOTTA, S.P.; VILLELA, M.M.; Soil contamination by *Ancylostoma* spp and *Toxocara* spp. Eggs in elementary school playgrounds in the extreme South of Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v31, e019121, 2022.
- MINHO AP, GASPAR EB, YOSHIHARA E (2015) Manual de Técnicas Laboratoriais e de Campo para a Realização de Ensaios Experimentais em Parasitologia Veterinária: Foco em Helmintos Gastrointestinais de Ruminantes 148:1–33. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136882/1/DT-148-online.pdf> . Acessado em 3 de maio de 2017
- PAULA, M.M.A.; OLIVEIRA, N.A.; SANTOS, J.M.; LIMA, P.P.A.; CARBINOT C.B.; ROCHA, T.V.P.; BARBOSA F. V.; SILVA-NETO A. F.; FRANCISCATO, C. Avaliação da endoparasitoses intestinais que acometem cães e gatos mantidos em um abrigo. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, SP, v37, n4, p273-278, 2021.
- PAULA, J.M.; SANTOS, C.G.; CANALLI, V.; FRITZEN, D.M.M.; BUSATO, M.A.; LUTINSKI, J.A. Perfil populacional de cães e gatos e bem estar animal em Chapécó, SC. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v12, n4, p437-449, 2018.
- SANTOS, I.F.C.; NHANTUMBO, B.; ALHO, P.; Ocorrência de casos de *Ancylostoma caninum* e *Toxocara canis* no Hospital Veterinária Escola (HEV) (2001 – 2010) – Maputo Moçambique. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, n21, 2013.
- SILVA, E.M.; LOURES, G.P.; FRANCISCATO, C. As endoparasitoses de cães como zoonoses – uma revisão bibliográfica. **Research, Society and Development**, v11, n6, e539116293888, 2022.
- SILVA, R.C.; OLIVEIRA, P.A.; FARIAS, L.A. Particularidade do *Ancylostoma caninum*: Revisão. **PubVet**, v15, p143, 2020.
- SCHWARTZ, R.; BIDAISEE, S.; FIELDS, P.J.. The epidemiology and control of *Toxocara canis* in puppies. **Parasite Epidemiology and Control**, v16, pe00232, 2022.
- TAYLOR, M.A.; COOP, R.L.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 4. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2017.
- UBIRAJARA FILHO, C.R.; SANTOS, K.K.F.; LIMA, T.A.R.F.; ALVES, L.C.; CARVALHO, G.A.; RAMOS, R.A.N. Gastrointestinal parasite in dogs and cats in line with the One Health' approach. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v74, n1, p43-50, 2022.