

TESTE DE EFICÁCIA *In vitro* DE FÁRMACOS contra *GIÁRDIA SP.*

MIRIANE MENDES PEREIRA¹; GABRIELE COSTA OLIVEIRA²; BRUNO CABRAL CHAGAS²; LEANDRO QUINTANA NIZOLI², MÁRCIA DE OLIVEIRA NOBRE³.

¹*Universidade Federal de Pelotas – mirimendes@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas – gabriele.costamv@gmail.com*

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

²*Universidade Federal de Pelotas – leandro_nizoli@ufpel.edu.br*

³*Universidade Federal de Pelotas – marciaonobre@gmail.com*

1. INTRODUÇÃO

A giárdia é um protozoário flagelado que pode acometer o trato intestinal de todos vertebrados e possui ciclo direto (RYAN, 2019), a espécie *dudodenalis* é responsável pela infecção nos mamíferos, incluindo caninos, felinos e seres humanos (MASANGKAY, 2020).

A transmissão ocorre por via fecal-oral através da ingestão dos cistos que foram eliminados nas fezes de animais infectados, presentes no ambiente, na água, alimentos e pêlos (JERICÓ, 20). Ocorre com maior prevalência em filhotes de cães e gatos, principalmente em canis ou em locais com alta taxa de densidade da população, ou que desencadeiam situações de estresse (SANTIN, 2020). Vale salientar, que ocorre uma grande frequência de animais assintomáticos que eliminam cistos intermitentes, e por períodos prolongados, o que auxilia na contaminação ambiental e em novas ocorrências da giardíase (ADOLPH, 2020).

Manifesta-se com grande periodicidade na rotina clínica de pequenos animais, além de ter relevância na saúde pública, principalmente pelo seu potencial zoonótico (DIXON, 2020), o que é importante, pois ocorreram novas descobertas que relataram a capacidade de transmissão interespécies de parasitos do gênero *Giárdia* (JERICÓ, 2022), que acarreta na atenção dos pesquisadores e autoridades públicas, especialmente, pois esta correlacionada com a presença dos animais de companhia nessa cadeia epidemiológica (DESTRO, 2019).

Para um diagnóstico efetivo e confirmar as manifestações clínicas são realizadas análises coproparasitológicas (LEUNG, 2019), com a finalidade de visualizar a presença de cistos e trofozoítos, ou por detecção de抗ígenos fecais por meio do método de ELISA (JERICÓ, 2022), pelo teste coproparasitológico, com amostras frescas de fezes ou mesmo lavados duodenais, é possível realizar o diagnóstico, com a técnica de flutuação fecal com sulfato de zinco (Método de Faust - 1938). Vale salientar que ocorre uma eliminação de cistos intermitentes, o que pode fazer com que ocorra um falso-negativo principalmente quando ocorre a avaliação de apenas uma amostra (RYAN, 2019).

O tratamento farmacológico é importante, porém deve ser feito quando se tem certeza do diagnóstico, todavia apenas ela não é suficiente para a eliminação do protozoário. As causas do insucesso na terapia incluem reinfecção,coinfecção, existência de doenças associadas, ou até mesmo pela resistência do fármaco utilizado (ESCCAP, 2011).

A infecção varia desde animais assintomáticos até pacientes que apresentam síndrome de má absorção. Ocorre uma grande dificuldade no controle do parasita, mesmo após o tratamento, pois existe uma grande quantidade de ani-

mais assintomáticos, principalmente os adultos, os quais eliminam cistos no ambiente e assim desencadeiam infecções sucessivas na população, essa situação ressalta a importância da prevenção desta zoonose (JERICÓ, 2022).

A presença do protozoário é um achado comum nos exames de fezes na rotina dos médicos veterinários dentro da clínica de pequenos animais, dada à relevância é imprescindível aumentar o conhecimento sobre essa patologia, fazer a correta pesquisa e diagnóstico, para garantir o bem-estar dos animais e seus tutores (TAYLOR, 2017). Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia *in vitro* de fármacos contra uma contaminação parasitária experimental de *Giardia* sp.

2. METODOLOGIA

Para avaliação da eficácia *in vitro* foi utilizado o teste modificado de filltragem e recuperação de ovos segundo MINHO et al. (2015). Para a técnica, foi produzida uma alíquota filtrada e purificada de 100 oocistos de *Giardia* sp. que foi quantificada através da técnica de Mini Flotac®, e 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, mantidas as formulações em sigilo, 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°). Após 24 horas foi realizada uma avaliação parcial e a eficácia total foi determinada pela contagem total de estruturas em 48 horas. As estruturas avaliadas foram ovos, oocistos e larvas de primeiro estágio – L1 com a finalidade de obter a estimativa de eclosibilidade 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 obtidos de eficácia do fármaco antiparasitário na redução de ovos, oocistos da *Giardia* sp no controle positivo (CTRL +) foi de 81%, já os grupos CA 001 e CA 002 obtiveram as respectivas eficácia: 92% e 100%, conforme descrito na tabela 1, abaixo:

Tabela 1: Resultados da eficácia dos grupos compostos por fármacos distintos através do cálculo de porcentagem da eficácia.

Antiparasitário (mg/ml)	Índice de redução de ovos e oocistos (%) <i>Giardia</i> sp.
CA 001	92
CTRL +	81
CA 002	100
CTRL -	-----

O produto CA 001, demonstrou uma elevada redução nos oocistos de *Giardia* sp, podendo figurar como uma excelente ferramenta de controle, visto que a mesma, possui uma intensa capacidade de propagação e resistência (JERICÓ, 2022).

A necessidade da incorporação de novos compostos de controle aos protocolos existentes, é de elevada importância, pois como a *Giardia* sp é o protozoário mais comum em casos de gastroenterites nos animais de companhia (HOZ, 2019) a utilização de fármacos de alto potencial de controle, podem vir a diminuir o número de administrações e possivelmente, se tornarem uma ferramenta de controle junto ao manejo sanitário.

O composto CA 002, obteve 100% no controle do protozoário, postulando como uma nova formulação que pode vir a ser associado aos controles disponíveis no mercado veterinário e intensificar os protocolos de aplicação de antiparasitário com melhoria e simbioses nas suas propriedades farmacocinéticas (GUIDUGLI, 2021).

Dessa forma, além da inovação farmacológica, é necessário que ocorra diagnóstico adequado, e também prevenção de parasitos com alto potencial zoonótico, através de prescrições veterinárias com atenção nos fármacos para que estes sejam usados de maneira racional para evitar resistência (PRADO, 2021) e também por controle ambiental, visando principalmente evitar o favorecimento de infecções sucessivas através dos animais assintomáticos, que liberam cistos no ambiente (JERICÓ, 202).

4. CONCLUSÕES

A partir dos testes de eficácia *in vitro*, conclui-se que os produtos CA 001 e CA 002, são altamente eficazes, no controle de cistos de *Giardia* sp.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADOLPH, C. Coccidia. In: BRUYETTE, D.S. et al. Clinical small animal internal Medicine. Wiley BlackWell, 2020. p.1023-1027. doi: 10.1002/9781119501237
- DIXON, B. R. *Giardia duodenalis* in humans and animals –Transmission and disease. Research in Veterinary Science, <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.09.034>, 2020.
- ESCCAP. European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. Control of intestinal protozoa in dogs and cats. ESCCAP Guidelines nº 6. 6th ed. Worcestershire, UK: ESCCAP, 2011.
- GUIDUGLI, EDUARDA TONIELLO. Avaliação da eficácia de compostos antihelmínticos com formulação palatável em cães naturalmente infectados por helmintos, Universidade Estadual Paulista, faculdade de ciências agrárias e veterinárias campus Jaboticabal, 2021.
- HOOSHYAR, H., ROSTAMKHANI, P., ARBABI, M., DELAVARI, M. Infecção por *Giardia lamblia* : a revisão das estratégias diagnósticas atuais. Gastroenterol. Hepatol. Banco de Cama 12, 3–12, 2019.

HOZ, R., & MORRIS, M.. *Parasitas intestinais, incluindo Cryptosporidium, Cyclospora, Giardia e Microsporidia, Entamoeba histolytica, Strongyloides, Schistosomiasis e Echinococcus: Diretrizes da Comunidade de Prática da Sociedade Americana de Doenças Infecciosas de Transplante. Transplante Clínico*, e13618. doi:10.1111/ctr.13618 , 2019.

JERICÓ, M. M.; NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos. 1. E.d- [reimpressão]- Rio de Janeiro: Roca, p. 691, p10. 2022

LEUNG, A.K.C., AMY, LEUNG, A.M., WONG, A.H.C., SERGI, C.M., KAM, J.K.M., . Giardiasis: An Overview, Recent Patents on Inflammation & Allergy Drug Discovery. 13, 134, 2019.

MASANGKAY, FR, MILANEZ, GD, TSIAMI, A., HAPAN, FZ, SOMSAK, V., KOTEPUI, M., TANGPONG, J., KARANIS, P. Protozoários patogênicos transmitidos pela água em Biofilmes aquáticos ambientais: Implicações para estratégias de avaliação da qualidade da água. Ambiente Poluir. 259, 113903, 2020

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 Gastrintestinais de Ruminantes 148:1–33. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136882/1/DT-148-online.pdf>, 2015

MONICA SANTIN, Cryptosporidium and Giardia in Ruminants, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Volume 36, Issue , Pages 223-238, ISSN 0749-0720, 2020.

RYAN U, HIJJAWI N, FENG Y, XIAO L. Giardia: uma transmissão alimentar subnotificada parasita. Int J Parasitol,49:1–11, 2019..

RYAN, U., ZAHEDI, A.,. Epidemiologia molecular da giardíase do ponto de vista veterinário. In: Ortega-Pierres, MG (Ed.), Avanços em Parasitologia: Giardia e Giardíase Parte a. volume 106. Academic Press, Londres, Reino Unido, pp. 209–254, 2019.

THOMPSON, RCA, & MONIS, P. *Giardia – Do Genoma ao Proteoma. Avanços em Parasitologia Volume 78*, 57-95. doi:10.1016/b978-0-12-394303-3.00003-7, 2012