

ATIVIDADE DOS FÁRMACOS DO GRUPO DAS QUINOLONAS (CIPROFLOXACINO E NORFLOXACINO) EM TROFOZOÍTOS DE *TRICHOMONAS GALLINAE*.

MARJORIE GIACOMETI¹; YAN WAHAST ISLABÃO²; ALEXIA BRAUNER DE
MELLO³; CAMILA BELMONTE OLIVEIRA⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – marjorie.giacometi@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – yanwahast06@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – alexiabraunermello@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – camilabelmontevet@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os protozoários são organismos unicelulares e eucarióticos. O gênero *Trichomonas* é classificado como pertencente ao reino Protista, filo Parabasalia, subfilo Sarcomastigophora, classe Trichomonadea, ordem Trichomonadida, família Trichomonadidae e inclui as espécies *Trichomonas vaginalis* e *Trichomonas gallinae* (URQUHART *et al.*, 1996; NEVES, 2016; MONTEIRO, 2017).

A tricomoniase aviária é uma doença que afeta uma variedade de aves, sendo causada pelo protozoário *Trichomonas gallinae* (RIVOLTA, 1878). O pombo doméstico (*Columba livia*) é o principal hospedeiro deste parasito, que coloniza o trato digestivo superior e respiratório das aves (SANSANO; MAESTRE *et al.*, 2009; AMIN *et al.*, 2014). Os sinais clínicos mais comuns incluem perda de peso, respiração ofegante, odor fétido no bico, inchaço do papo e lesões orais. Em casos graves lesões na traqueia e esôfago (obstruções) podem causar óbito por sufocação (TASCA; DE CARLI, 2006; FORZÁN *et al.*, 2010).

O reposicionamento de medicamentos é uma estratégia emergente para acelerar a validação de novas terapias. Este método envolve o uso de medicamentos já existentes para tratar novas doenças. O objetivo principal deste processo é reduzir os custos e acelerar o desenvolvimento para a validação de um novo medicamento (ASHBURN; THOR, 2004; CHONG; SULLIVAN, 2007).

As quinolonas são medicamentos derivados sintéticos produzidos a partir do processamento da Cloroquina que apresenta atividade antibacteriana e é amplamente utilizado na saúde humana e animal (ALÓS, 2003). Atualmente, temos quatro gerações de quinolonas em uso. A primeira geração inclui o ácido nalidíxico e o ácido oxonílico. A segunda geração, também conhecida como fluorquinolonas, engloba norfloxacin, ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino, enrofloxacino, danofloxacino, orbifloxacino e marbofloxacino. A terceira geração é composta por levofloxacino e esparfloxacino. Por fim, a quarta geração inclui trovafloxacino, clinafloxacino e sitafloxacino (SPINOSA *et al.*, 2002).

Este estudo teve como objetivo avaliar e comparar a atividade tricomonicida utilizando fármacos disponíveis no mercado e indicados para diferentes enfermidades. Foram avaliados *in vitro* a atividade dos fármacos do grupo das Quinolonas (Ciprofloxacino e Norfloxacino) em trofozoítos de *Trichomonas gallinae*.

2. METODOLOGIA

Os parasitos foram cultivados axenicamente em meio tripticase-extrato de levedura-maltose (TYM) sem adição de ágar, com pH 7.2, suplementado com 10%

de soro bovino estéril inativado a 56°C, antibiótico (meropenem) e incubados a 37°C em estufa B.O.D (DIAMOND, 1957).

Os fármacos testados no presente estudo ciprofloxacino e norfloxacino foram diluídos em diferentes concentrações: ciprofloxacino (5mg/mL; 3mg/mL; 1mg/mL; 0.3mg/mL; 0.1mg/mL) e norfloxacino (10mg/mL; 3mg/mL; 2mg/mL; 0.5mg/mL 0.25 mg/mL). As concentrações foram selecionadas a partir de testes prévios com ambos os antibióticos. As concentrações foram incubadas juntamente com os trofozoítos por 24 horas para determinação da concentração mínima inibitória (CIM). Posteriormente ao determinar a CIM uma curva de crescimento cinético foi preparada e analisada em 1h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h, a fim de avaliar em qual tempo ocorria a inibição do trofozoíto (SENA-LOPES *et al*, 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, considerou-se inibições de trofozoítos relevantes a partir de 95%. Com a ciprofloxacino, obtivemos 99.8% de inibição na maior concentração de 5mg/mL, seguido por 96.3% (3mg/mL), 94.9% (1mg/mL), 86% (0.3mg/mL) e 0% (0.1 mg/mL). A partir da concentração de 1mg/mL há diferenças estatísticas comparadas com o MTZ. Visto isso, o CIM foi determinado em 3mg/mL. Quanto a curva de crescimento observamos na Figura 1 que a partir de 6 horas já havia aproximadamente 90% de inibição. Na hora 24 observamos uma ótima atividade do fármaco, inibindo 97.3% os trofozoítos, a partir da hora 48h obteve-se 100% de inibição e os trofozoítos não voltaram a se multiplicar até a última leitura em 96h.

Para norfloxacino concentrações mais altas foram utilizadas. É possível observar que na concentração de 10mg/mL inibiu 97.9% dos trofozoítos, entretanto não houve diferença estatística em até 0.3mg/mL. Na concentração de 3mg/mL obteve-se 96.9% de inibição seguido de 96.1% (2 mg/mL), 88.7% (0.5 mg/mL) e 0% (0.25 mg/mL). O CIM foi determinado em 2 mg/mL. Na curva de crescimento cinético observamos na Figura 1, a inibição foi observada a partir da hora 1 (98.8%). Em 24h observamos 100% de inibição permanecendo assim até o final do experimento.

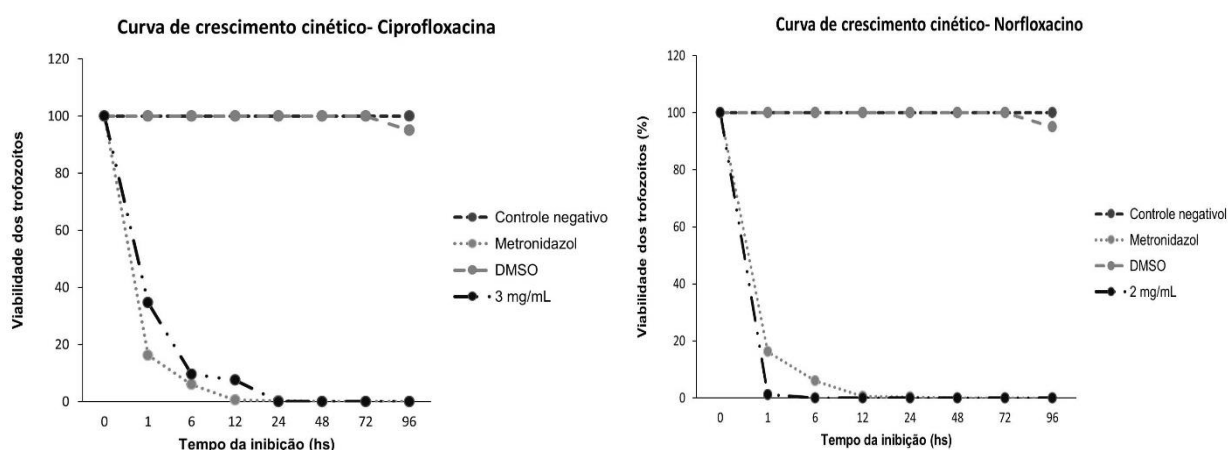


Figura 1: Curva de crescimento cinético dos fármacos.

O reposicionamento apresenta vantagens no que diz respeito às informações sobre as propriedades do medicamento, incluindo farmacocinética, farmacodinâmica e toxicidade. Isso ocorre porque tais propriedades já foram estabelecidas por meio de testes e análises em humanos e animais, facilitando a realização de ensaios clínicos em um tempo mais curto. Além disso, a taxa de

aprovação de medicamentos reposicionados é de 30%, enquanto a taxa de aprovação para novas drogas é de apenas 10% (JAIN; GUPTA, 2015). Os resultados observados neste estudo são inéditos, pois a atividade destes fármacos até o presente momento não foram testados em *T. gallinae*. Estudos comprovam que ambos os fármacos podem ser utilizados em aves, sendo administradas por via oral (SÁRKÖZY; SEMJÉN; LACZAY, 2004; ABADÍA-PATÍÑO *et al.*, 2021).

Uma das características mais notáveis das fluorquinolonas é o seu vasto volume de distribuição, permitindo que o medicamento atinja uma ampla gama de tecidos e órgãos no corpo, aumentando assim a eficácia do tratamento. Além de sua baixa ligação com proteínas plasmáticas, resultando em uma maior quantidade do medicamento disponível para exercer sua ação terapêutica (SPINOSA; GÓRNIK; BERNARDI, 2018).

A atividade tricomonocida do ciprofloxacino já foi testada em trofozoítos de *Trichomonas vaginalis*, protozoário pertencente ao mesmo gênero do *T. gallinae*. Inceboz, Inceboz e Ozturk (2004) observaram alta eficácia (100% inibição) frente ao mesmo protozoário na concentração de 750 ug/mL. Em nosso estudo, observamos a atividade em *T. gallinae*, onde o ciprofloxacino foi capaz de inibir os trofozoítos de forma dose-dependente. Em outros relatos contra *Giardia lamblia*, os autores descrevem que a atividade do ciprofloxacino pode estar relacionada às mudanças morfológicas e danos a membrana do parasito, além disso houve perda da viabilidade (48 horas) e diminuição da aderência, crescimento e captação de oxigênio deste parasito (SOUSA; POIARES-DA-SILVA, 2001). Por serem protozoários flagelados, sugere-se que o mecanismo de ação do ciprofloxacino seja similar.

Neste estudo pode-se observar a diferença de atividade entre o norfloxacino e a ciprofloxacino. Petmitr *et al.* (2000), testaram a atividade de alguns inibidores da topoisomerase II contra *T. vaginalis*, entre eles, a norfloxacino apresentou atividade contra o parasito, tendo o valor de seu CIM em 1.280 µM. A ciprofloxacina e a norfloxacina estão estruturalmente relacionadas, embora a ciprofloxacina seja mais ativa. Os compostos agem de maneira semelhante, contudo, a atividade bactericida da ciprofloxacina não é tão facilmente revertida pela inibição do DNA ou da síntese proteica como a da norfloxacina, isso sugere que a ciprofloxacina pode possuir um mecanismo bactericida adicional não compartilhado pela norfloxacina (ELLIOT *et al.*, 1987).

4. CONCLUSÕES

Nesta pesquisa pode-se concluir que a o ciprofloxacino e norfloxacino possuem atividade tricomonocida em *T. gallinae*. O reposicionamento destes fármacos representa uma nova alternativa de tratamento da tricomoníase aviária, mediante à realização de mais pesquisas e abordagens neste campo, já que o reposicionamento de fármacos surge como uma estratégia promissora para o desenvolvimento rápido de novos tratamentos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADÍA-PATÍÑO, L.; MENESES-FRANCO, A.C.; ROMERO-SUDREZ, M.E.; JOSÉ, L. P.; GÓMEZ, F. R. Fluoroquinolonas en aves, huevos, alimentos avícolas y su impacto en la microbiota intestinal de aves/Fluoroquinolone in birds, eggs, poultry feeds and their impact on the intestinal microbiota. **Kasmera**, v. 49, n. 1, p. 1c-1c, 2021.

- ASHBURN, T.T.; THOR, K.B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 8, p. 673-683, 2004.
- ALÓS, J. I. Quinolonas. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, v. 21, n. 5, p. 261-268, 2003.
- AMIN, A.; BILIC, I.; LIEBHART, D.; HESS, M. Trichomonads in birds – a review. **Parasitology**, v. 141, p. 733–747, 2014.
- CHONG C.R; SULLIVAN, D.J. Jr. New uses for old drugs. **Nature**, v. 448, n. 7154, p. 645-646, 2007.
- DIAMOND, L.S. The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. **Journal of Parasitology**, v. 43, n. 4, p. 488-499, 1957.
- ELLIOTT, T. S. J.; SHELTON, A.; GREENWOOD, D. The response of *Escherichia coli* to ciprofloxacin and norfloxacin. **Journal of medical microbiology**, v. 23, n. 1, p. 83-88, 1987.
- FORZÁN, M.J.; VANDERSTICHEL, R.; MELEKHOVETS Y.F.; MCBURNEY, S. Trichomoniasis in finches from the Canadian Maritime provinces – An emerging disease. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 51, n. 4, p. 391–396, 2010.
- JAIN, V., & GUPTA, O. P. Repositioning of drugs: Hydroxychloroquine. **Journal of Mahatma Gandhi Institute of Medical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 1, 2015.
- MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca Ltda, 2017.
- NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2016.
- PETMITR, P. C., RAMDJA, M., & KAJORNDECHAKIAT, S. In vitro sensitivity of *Trichomonas vaginalis* to DNA topoisomerase II inhibitors. **Southeast Asian journal of tropical medicine and public health**, v. 31, n. 1, p. 118-122, 2000.
- RIVOLTA, S. Una forma di croup prodotta da un infusorio, nei polli. *Giornale di Anatomia, Fisiologia e Patologia Animale*, v. 10, p. 149-158, 1878.
- SANSANO-MAESTRE, J.; GARIJO-TOLEDO, M.M.; GÓMEZ-MUÑOZ, M.T. Prevalence and genotyping of *Trichomonas gallinae* in pigeons and birds of prey. **Avian Pathology**, v. 38, n. 3, p. 201-7, 2009.
- SÁRKÖZY, G.; SEMJEN, G.; LACZAY, P. Disposition of norfloxacin in broiler chickens and turkeys after different methods of oral administration. **The Veterinary Journal**, v. 168, n. 3, p. 312-316, 2004.
- SENA-LOPES, Â.; DAS NEVES, R.N.; BEZERRA, F.S.B.; DE OLIVEIRA SILVA, M.T.; NOBRE, P.C.; PERIN, G.; ALVES, D.; SAVEGNAGO, L.; BEGNINI, K.R.; SEIXAS, F.K.; COLLARES, T.; BORSUK, S. Antiparasitic activity of 1,3-dioxolanes containing tellurium in *Trichomonas vaginalis*. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 89, p. 284-287, 2017.
- SOUSA, M. C.; POIARES-DA-SILVA, J. The cytotoxic effects of ciprofloxacin in *Giardia lamblia* trophozoites. **Toxicology in vitro**, v. 15, n. 4-5, p. 297-301, 2001.
- SPINOSA, H. D. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.
- TASCA, T.; DE CARLI, G.A. ***Trichomonas gallinae***. In: *Animal health and Production Compendium*. Wallingford: CAB International, Oxfordshire, v. 1, p. 1- 20, 2006.
- URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. *Protozoologia Veterinária*. In: Bressan, M.C.; Pereira, M.C. **Parasitologia Veterinária**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. pp. 183-194.