

REPOSITIONAMENTO DE FÁRMACOS ANTICOCCIDIANOS EM *Trichomonas gallinae*: RESULTADOS PRELIMINARES

**FILIPE OBELAR MARTINS¹; YAN WAHAST ISLABÃO²
RONYSSA DOS SANTOS RIBEIRO⁴; AIRAN DE QUEVEDO⁴; CAMILA
BELMONTE OLIVEIRA⁵**

¹*Universidade Federal de Pelotas* 1 – obelar05@gmail.com

²*Universidade Federal de Pelotas* – yanwahast06@gmail.com

³*Universidade Federal de Pelotas* – ronyssaribeiro5742@gmail.com

⁴*Universidade Federal de Pelotas* – airanfernandes18@gmail.com

⁵*Universidade Federal de Pelotas Orientador* – camilabelmontevet@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

Os protozoários são microrganismos unicelulares e eucarióticos pertencentes ao reino Protista, podem viver livremente ou em associação com outros organismos, causando ou não danos (BASTOS SOUZA et al., 2022). Um exemplo de doença causada por protozoários é a tricomonose aviária, provocada pelo gênero *Trichomonas*, que possui metabolismo anaeróbico facultativo e utiliza hidrogenossomos em vez de mitocôndrias para produzir moléculas de hidrogênio (CUDMORE et al., 2004; MONTEIRO, 2017).

Este organismo, acomete especificamente aves, tendo o pombo doméstico (*Columba livia*) sendo considerado um dos principais hospedeiros da doença. O protozoário infecta uma grande variedade de aves como aves silvestres e de produção, podendo causar grandes prejuízos econômicos na avicultura (BUNBURY et al., 2007; FORRESTER; FOSTER, 2009)

O tratamento da tricomonose é feito com medicamentos do grupo dos 5-nitroimidazóis sendo o metronidazol (MTZ) o mais eficaz frente a estes patógenos, no entanto, a administração inadequada pode levar à resistência parasitária e efeitos colaterais devido à alta toxicidade do medicamento (AMIN et al., 2014; BACCEGA et al., 2019). Devido à limitação dos nitroimidazóis, novas alternativas terapêuticas, como o reposicionamento de fármacos, estão sendo exploradas. Neste contexto, os fármacos anticoccidianos poderiam ser considerados promissores devido ao seu amplo espectro de ação em microrganismos (SPINOZA, 1996) apesar da ausência de pesquisas que comprovem sua eficácia contra *Trichomonas gallinae* (SILVA, 2015). O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade tricomonicida de fármacos anticoccidianos em *T. gallinae* *in vitro*.

2. METODOLOGIA

Para avaliar o possível potencial tricomonicida dos fármacos anticoccidianos, primeiramente foram adquiridos comercialmente três medicamentos, sendo eles: Diclazuril, Sulfaquinoxalina + Sulfato de Neomicina e Sulfamicina (Sulfadimetoxina sódica + Sulfato de Neomicina). As doses foram calculadas de acordo com a dose terapêutica de cada medicamento. Após os cálculos, foram realizados os rastreios dos medicamentos nas concentrações 400 ug, 450 ug, 500 ug, 550 ug e 600 ug. para cada medicamento.

Para o teste *in vitro*, foi utilizada a metodologia descrita por SENA-LOPES e colaboradores (2017). Foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços, nas quais foram adicionados 150 µL de cultivo com uma concentração de 2×10^6 trofozoítos/mL em meio TYM e 50 µL contendo o medicamento e o meio TYM. As placas foram incubadas em estufa de CO₂ por 24 horas. Após esse período, as placas foram retiradas da estufa e avaliou-se a motilidade, morfologia e viabilidade dos trofozoítos por meio de uma alíquota (1:1, v/v) contendo trofozoítos e utilizando o corante azul de tripano a 0,4%, sendo a contagem realizada em câmara de Neubauer.

A análise estatística foi realizada através da Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido pelo Teste de Tukey para comparações múltiplas entre grupos. O valor de probabilidade utilizado foi $P \leq 0,05$. Os resultados são expressos como média (\pm) e desvio padrão. Para determinação da IC₅₀ foi utilizado o teste de regressão não linear. Todas as análises foram realizadas utilizando o software GraphPad Prism 8.0.1.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios *in vitro* estão representados na Tabela 1. A partir desses testes, foi calculada a IC₅₀, ou seja, a concentração necessária para inibir 50% dos trofozoítos, para a Sulfamicina, que resultou em 406,4 µg. Esse valor foi inferior ao encontrado para os outros dois fármacos testados: Sulfaquinoxalina, com IC₅₀ de 506,9 µg, e Diclazuril, com IC₅₀ de 609,1 µg.

Esses dados indicam que a Sulfamicina apresentou uma concentração inibitória menor em relação aos outros fármacos avaliados, sugerindo maior eficácia na inibição dos trofozoítos, visto que atinge o efeito desejado com uma menor quantidade de substância.

Medicamento	IC ₅₀
Sulfamicina	406,4µg
Sulfaquinoxalina	506,9µg
Diclazuril	609,1µg

Tabela 1: Tabela com os três medicamentos e seus respectivos IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% da atividade celular) frente ao *Trichomonas gallinae*. No qual o fármaco sulfamicina demonstrou maior atividade na análise estatística.

Os resultados iniciais do teste *in vitro* indicam que, em apenas 24 horas, o medicamento à base de sulfamicina demonstrou atividade tricomonicida na concentração de 600 µg. (Figura 1).

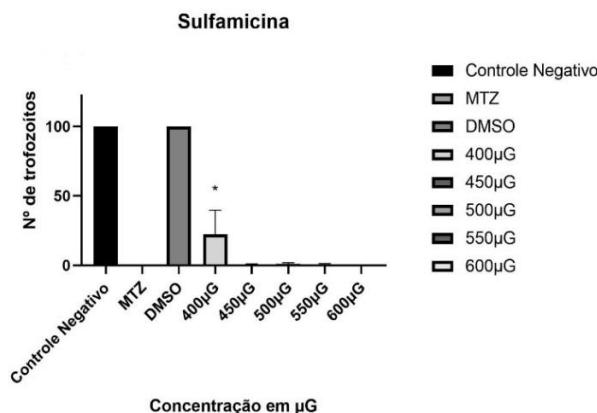


Figura 1: Efeito da sulfamicina em diferentes concentrações sobre trofozoítos de *T. gallinae*. A concentração de 600 µg foi a mais eficaz eliminando 100% dos parasitos se comparada aos controles negativo, controle de Metronidazol (MTZ) e Dimetilsulfóxido (DMSO), os (*) indicam diferença estatística.

Os resultados preliminares obtidos neste estudo, mostraram que a sulfamicina apresentou atividade tricomônica, pois apresentou o menor IC₅₀ dos compostos testados. Este resultado corrobora com BUA et al., (2018) que utilizou compostos sulfonamídicos como a sulfamida e sulfamatos e apresentou propriedades inibitórias significativas contra *Entamoeba histolytica*, mais especificamente como um inibidor da enzima anidrase carbônica β (EhICA), crucial para o metabolismo de dióxido de carbono CO₂.

Outro estudo relacionado ao uso de sulfonamidas em protozoários foi realizado por PEIWEN et al., (2013), que testaram diferentes compostos no *Trypanosoma cruzi*. Eles investigaram a inibição da enzima α-ânidrase carbônica (TcCA), observando um potencial de inibição variável, com constantes de inibição (K_I) entre 192 nM e 82 µM. A inibição da TcCA resultou em um desequilíbrio metabólico, levando à morte dos parasitos.

GONZALEZ et al., (2021), utilizou sulfametoxazol-trimetoprima frente a coccídeos em *in vivo*, em caprinos na concentração de 30mg/kg, tendo seu efeito entre 3 a 5 dias de tratamento, se compararmos com nosso estudo *in vitro*, obtivemos eficácia de 100% em 24 horas de testes, reforçando a possível ação deste medicamento no combate ao *T. gallinae*.

4. CONCLUSÕES

Neste experimento de triagem, pode-se concluir que, dos três medicamentos testados contra o *T. gallinae*, apenas a sulfamicina demonstrou atividade tricomônica.

No entanto, mais experimentos serão realizados para confirmar e compreender essa ação deste medicamento no protozoário *T. gallinae*,

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BACCEGA, B., ALVES, M. S. D., NEVES, R. N., VELHO, M. C., GODOI, S. N. de OURIQUE, A. F., VILLELA, M. M., VIANNA, E. E. S., FARÍAS, N. A. da R. e

OLIVEIRA, C. B. **Disciplinarum Scientia| Naturais e Tecnológicas**, v. 20, n. 3, p. 337-354, 2019.

BASTOS SOUSA, José Jefferson; CARVALHO, Amanda Regina Silva; SILVA, Lucas Lima; ALVES, Mariana Oliveira; NASCIMENTO, Débora Santos. Levantamento de parasitoses causadas por protozoários nos municípios de Coelho Neto e Duque Bacelar-MA. **Revista Foco (Interdisciplinary Studies Journal)**, v. 15, n. 6, 2022.

BUA, Silvia; HAAPANEN, Susanna; KUUSLAHTI, Marianne; PARKKILA, Seppo; SUPURAN, Claudiu T. Sulfonamide inhibition studies of a new β -carbonic anhydrase from the pathogenic protozoan *Entamoeba histolytica*. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 3946, 2018.

BUNBURY, N., JONES, C. G., GREENWOOD, A. G., & BELL, D. J. (2007). Trichomonas gallinae in Mauritian columbids: implications for an endangered endemic. **Journal of Wildlife Diseases**, 43(3), 399-407.

CUDMORE, S. L., DELGATY, K. L., Hyward-mcclelland, S. F., Petrin, D. P. e Garber, G. E. 2004. **Treatment of infections caused by metronidazole-resistant**

GONZÁLEZ, A.; SAYAGO, D.; RÍOS, L.; RONDÓN, Z.; GARCÍA, F.; COLMENARES, O.; MACHADO, I.; MUÑOZ, G. **Comparação da eficácia do toltrazuril e sulfametoxazol-trimetoprima no tratamento da coccidiose intestinal em cabritos**. [S.I.: s.n.], 2015.

FORRESTER, D. J.; FOSTER, G. W. (2009). Trichomonosis. In: Atkinson, C. T.; Thomas, N. J. & Hunter, D. B. (Eds.), **Parasitic Diseases of Wild Birds** (1^a Edição, pp.120-153). Oxford, UK: Wiley-Blackwell. GATTI FA, Ceolan E, GRECO FS, SANTO

Livro Trichomonas vaginalis (Tratamento de infecções causadas por Trichomonas vaginalis resistente ao metronidazol). **Clinical Microbiology Reviews**, 17(4), 783-7931.

MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca Ltda, 2017.

Pan, Peiwen; Vermelho, Alane Beatriz; Rodrigues, Giseli Capaci; Scozzafava, Andrea; Tolvanen, Martti E. E.; Parkkila, Seppo; Capasso, Clemente; Supuran, Claudiu T. Cloning, characterization, and sulfonamide and thiol inhibition studies of an α -carbonic anhydrase from *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 56, n. 5, p. 1761-1771, 2013. DOI: 10.1021/jm4000616.

SILVA, Giseli Corrêa da. **Estratégias em reposicionamento de fármacos**. 2015