



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro de Tecnologia e Ciências

Faculdade de Engenharia

Wilton dos Santos de Freitas

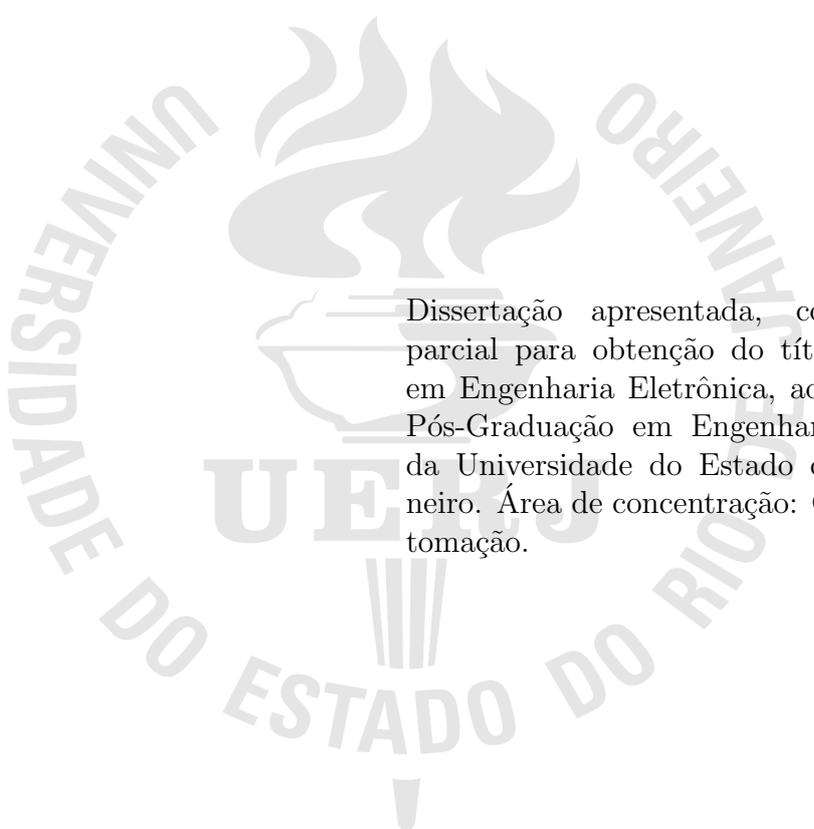
**Controle Populacional do Protozoário *Giardia lamblia* com
Resultados Experimentais**

Rio de Janeiro

2022

Wilton dos Santos de Freitas

**Controle Populacional do Protozoário *Giardia lamblia* com Resultados
Experimentais**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Eletrônica, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Eletrônica, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Controle e Automação.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Roux de Oliveira

Orientadora: Prof. Dr. Maria Fantinatti Fernandes da Silva

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/B

F866

Freitas, Wilton dos Santos de
Controle populacional do protozoário *Giardia lamblia* com resultados experimentais / Wilton dos Santos de Freitas. – 2022.
61f.

Orientadores: Tiago Roux de Oliveira, Maria Fantinatti Fernandes da Silva

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia.

1. Engenharia eletrônica - Teses. 2. Sistemas biológicos - Teses. 3. Sistemas não-lineares - Teses. 4. Sistemas de controle por realimentação - Teses. 5. Convergência - Teses. I. Oliveira, Tiago Roux de. II. Silva, Maria Fantinatti Fernandes da. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Engenharia. IV. Título.

CDU 681.516.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Wilton dos Santos de Freitas

**Controle Populacional do Protozoário *Giardia lamblia* com Resultados
Experimentais**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Eletrônica, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Eletrônica, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Controle e Automação.

Aprovado em: 12 de Dezembro de 2022

Banca Examinadora:

Prof. Tiago Roux de Oliveira, D.Sc. (Orientador)
Faculdade de Engenharia da UERJ

Prof. Maria Fantinatti Fernandes da Silva, D.Sc. (Orientadora)
Instituto Oswaldo Cruz da FIOCRUZ Curso de Medicina da UFRR

Prof. Téo Cerqueira Revoredo, D.Sc.
Faculdade de Engenharia da UERJ

Prof. Cristiano de Souza de Carvalho, D.Sc.
Programa de Engenharia de Controle e Automação - CEFET-RJ

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, José e Rosinha, por todo esforço e apoio em minha trajetória para conseguir chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS pelo dom da vida.

Aos meus mestres e orientadores, Tiago Roux e Maria Fantinatti por toda confiança e apoio despendidos na orientação deste trabalho, o meu muito obrigado.

A minha mãe Rosa e aos meus irmãos Wilson, Débora e Daniele pelas palavras de carinho e conforto nos momentos difíceis da vida.

Aos meus filhos Messias, Nayara e a pequena Luna Mell, pelo amor e apoio, essa vitória também é de vocês.

Aos demais familiares e amigos que durante todo o tempo deram incentivo e apoio, acreditando que esse momento chegaria.

Um agradecimento em especial para o meu amigo Victor Hugo Pereira Rodrigues que me ajudou nesta empreitada. Sua ajuda foi um diferencial para a concretização deste trabalho, o meu muito obrigado.

Aos amigos do mestrado, Vinícius, Daniel, Wallace, Marcelo e Rodrigo, obrigado pela amizade, por compartilhar os momentos de alegrias e de angústias.

Um muito obrigado à minha instituição, Cefet-RJ, por me conceder licença integral para que pudesse me dedicar aos estudos do mestrado.

Por último, um agradecimento especial a todos os mestres professores, funcionários e instituições de ensino que fizeram parte de minha formação educacional, o meu muito obrigado.

RESUMO

FREITAS, Wilton dos Santos. Controle Populacional do Protozoário *Giardia lamblia* com Resultados Experimentais. 2022, 61 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Eletrônica) - Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro.

Giardia lamblia é um protozoário intestinal flagelado com distribuição global causador da doença conhecida como giardíase. Este parasito é responsável por 35,1% dos surtos de diarreia causada por água contaminada e acomete principalmente crianças nas quais pode causar comprometimento físico e cognitivo. Nesta Dissertação, considera-se um modelo de dinâmica populacional baseado na teoria de jogos evolutivos para representar o comportamento da *Giardia lamblia in vitro*, levando-se em consideração a característica do protozoário de resistir a ação do fármaco metronidazol. Diferentemente do que se encontra na literatura, persegue-se como objetivo de controle a exterminação do protozoário considerando-se que os parâmetros do sistema são incertos e apenas a medição parcial do vetor de estado está disponível. Sob essas hipóteses, uma lei de controle é projetada tais que provas de convergência são rigorosamente demonstradas para o sistema em malha fechada. Resultados de simulações são apresentados para ilustrar o comportamento da malha fechada.

Palavras-chave: Sistemas Biológicos. Sistemas Não-Lineares Incertos. Realimentação de Saída. Convergência Assintótica. Convergência em Tempo Finito.

ABSTRACT

FREITAS, Wilton dos Santos. *Population control of the protozoan Giardia lamblia with Experimental Results*. 2022, 61 f. Thesis (Master Degree in Electronic Engineering) - Faculdade de Engenharia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro.

Giardia lamblia is a flagellate intestinal protozoan with global distribution causing the disease known as giardiasis. This parasite is responsible for 35.1% of outbreaks of diarrhea caused by contaminated water which and mainly affects children in whom it can cause physical and cognitive impairment. In this dissertation, we consider a model of population dynamics based on evolutionary game theory to represent the behavior of *G. lamblia in vitro*, taking into account its characteristic of resisting the action of the drug metronidazole. Different from what is found in the literature, it is pursued as the control objective the extermination of the protozoan considering that the parameters of the model are uncertain and only the partial measurement of the state vector is available. On these assumptions, a control law is designed such that proofs of convergence are rigorously demonstrated for the closed-loop system. At the end, simulation and experimental results the benefits of the proposed population control methods of *Giardia lamblia*.

Keywords: Biological Systems. Uncertain Nonlinear Systems. Output Feedback. Asymptotic Convergence.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição dos surtos causados por protozoários nos anos de 2004 a 2010 por continente. Fonte: Gráfico feito pelo autor segundo (BALDURSSON; KARANIS, 2011).	10
Figura 2	Ciclo biológico de <i>Giardia lamblia</i>	16
Figura 3	- Controle por realimentação de saída.	29
Figura 4	Crescimento populacional livre - sem medicamento.	31
Figura 5	Mutação dinâmica com limite $\sqrt{\frac{\omega_m}{2}}$	31
Figura 6	População <i>Giardia lamblia</i> normalizada com administração de fármaco.	32
Figura 7	Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).	33
Figura 8	População <i>Giardia lamblia</i> normalizada com administração de fármaco.	34
Figura 9	Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).	35
Figura 10	População <i>Giardia lamblia</i> não-normalizada.	36
Figura 11	Observador de norma <i>versus</i> a variável não-medida.	37
Figura 12	Trofozoíto de <i>G.lamblia</i> visto Microscópio Eletrônico.	38
Figura 13	Controle de população <i>Giardia lamblia</i> .	39
Figura 14	Controle de população <i>Giardia lamblia</i> com aproximação.	39
Figura 15	Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).	40
Figura 16	Crescimento Exponencial: y em Função de t para $dy/dt = ry$.	46
Figura 17	Crescimento Logístico para Muitas Populações.	49
Figura 18	Modelo Logístico Presa Predador por Lotka - Volterra.	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Dosagem Única de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos	24
Tabela 2	Dosagem Curta de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos	24
Tabela 3	Dosagem Curta de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos	25
Tabela 4	Dosagem Convencional de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos	25
Tabela 5	Parâmetros da Simulação.	30
Tabela 6	Concentração de metronidazol para exposição de <i>Giardia lamblia</i>	38

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	10
1	CICLO BIOLÓGICO, TRANSMISSÃO E TRATAMENTO	15
1.1	Ciclo Biológico e Transmissão de <i>Giardia lamblia</i>	15
1.2	Tratamento da infecção por <i>Giardia lamblia</i>	17
2	MODELAGEM MATEMÁTICA	18
2.1	Formulação do Problema	18
2.2	Hipoteses	20
3	OBSERVADOR DE NORMA DA VARIÁVEL NÃO MEDIDA ..	21
3.1	Observador de norma da variável não medida $x_2(t)$	21
4	CONTROLE DE DOSAGEM DE MEDICAMENTOS	24
4.1	Convergência Assintótica	25
4.2	Propriedade Input-to-State-Stability (ISS) do Sistema em Malha Fechada .	28
5	RESULTADOS, SIMULAÇÕES E EXPERIMENTOS	30
5.1	Comportamento da População de <i>G. lamblia</i> na Ausência de Metronidazol	30
5.2	Comportamento da População de <i>G. lamblia</i> na Presença de Doses Cons- tantes de Metronidazol	32
5.3	Comportamento da População na Presença de Doses Variáveis de Metro- nidazol	34
5.4	Experimento com Cultivo Axênico de Trofozoítos de <i>Giardia lamblia</i> e Exposição ao Metronidazol	37
5.5	Discussão	40
6	CONCLUSÃO	42
	APÊNDICE	44
	REFERÊNCIAS	52

INTRODUÇÃO

As infecções parasitárias por helmintos e protozoários intestinais constituem ainda um sério problema de saúde pública. A falta de saneamento básico, condições socioeconômicas e medidas de educação em saúde pública têm um papel fundamental no combate e controle dessas infecções causadas por esses parasitas (ORLANDINI; MATSUMOTO, 2010).

Crianças de zero a seis anos de idade estão mais suscetíveis a estas doenças parasitárias pois encontram-se em fase de exploração oral, hábitos de higiene em formação, início da locomoção independente e sistema imune pouco estimulado, e quando não tratadas trazem como principais complicações: anemia, desnutrição, baixo rendimento escolar, diarreia e baixo pñdero-estatural. Estas consequências podem ser atribuídas principalmente as altas cargas parasitárias, bem como constantes reinfecções (PINHEIRO, 2011).

O parasito intestinal *Giardia lamblia* causador da doença giardíase apresenta distribuição global e é mais frequente em crianças no Brasil. De acordo com Nunes et al. (2016) o patógeno é um protozoário de alta prevalência que impacta o estado nutricional de crianças em países em desenvolvimento.

No continente americano estão concentrados 33% desses surtos (Figura 1) e o Brasil é responsável por 1% dos surtos no mundo (BALDURSSON; KARANIS, 2011), entretanto, e, provavelmente, estes dados encontram-se subestimados, pois esta infecção não faz parte de uma lista de de doenças de notificação compulsória por parte do Ministério da Saúde Brasileiro. Veja **PORTARIA GM/MS Nº 420, DE 2 DE MARÇO DE 2022**.

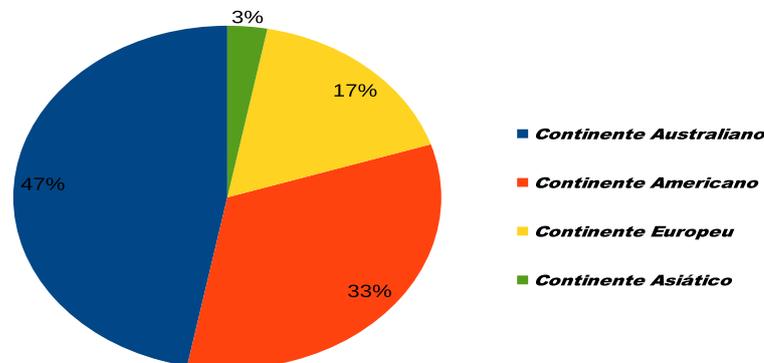


Figura 1: Distribuição dos surtos causados por protozoários nos anos de 2004 a 2010 por continente. Fonte: Gráfico feito pelo autor segundo (BALDURSSON; KARANIS, 2011).

Estima-se que 35,1% dos surtos de diarreia são ocasionados por água contaminada (BALDURSSON; KARANIS, 2011), fazendo com que a infecção por este parasito esteja intimamente relacionada à transmissão hídrica. Aproximadamente 15% dos casos de giardíase são provocados pela ingestão de alimentos contaminados (TORGERSON et al., 2015). *Giardia spp* juntamente com *Cryptosporidium spp* são os principais responsáveis por surtos de transmissão hídrica. Segundo Silva et al. (2017), por se tratar de uma zoonose, o contato com animais domésticos também pode se caracterizar como um fator de risco para a infecção por *G. lamblia*.

Nesta Dissertação são desenvolvidas novas estratégias de controle para eliminar este parasito considerando um modelo matemático para sistemas biológicos sujeitos a dinâmicas que exibem comportamentos de mutação baseado na Teoria de Jogos Evolutivos (Evolutionary Game Theory) inspirado no trabalho de Li, Lenaghan e Zhang (2013).

Nesta trabalho é proposto uma lei de controle com objetivo de introduzir o medicamento metronidazol para exterminar este parasito. Teoremas e provas de estabilidades são apresentados no decorrer deste estudo.

BREVE HISTÓRICO

O controle populacional, em uma visão mais ampla, tornou-se objeto de estudos em diversas áreas do conhecimento, tais como: economia, agronomia, biologia, engenharia de controle, dentre outras. Neste sentido, a modelagem matemática serviu de base sólida para descrever o comportamento do crescimento populacional ao longo dos anos (BELTRÃO et al., 2009).

Em 1798, o economista Thomas Malthus, iniciou um estudo voltado para o controle populacional. Segundo Malthus, o crescimento populacional em ritmo acelerado, traria como consequências a escassez de muitos recursos, alimentos por exemplo, o qual traria fome e miséria para o mundo. Mediante suas premissas, Malthus propôs um modelo matemático para descrever o crescimento populacional, e, este ficou conhecido como modelo malthusiano (ALVES, 2002).

A modelagem de Malthus, embora criticada socialmente, foi a precursora de diver-

Outros modelos que viriam anos após. Neste caminho, o matemático Pierre François Verhulst publicou em 1838 um artigo que foi além do modelo de Malthus. Verhulst acrescentou uma função a mais na modelagem malthusiana. Este previa que a população cresceria indefinidamente sem se preocupar, por exemplo, com as limitações de espaço, suprimento de comida ou de outros recursos que de alguma forma reduziria a taxa de crescimento exponencial (ANGELINI, 1999).

O modelo de Verhulst ou equação logística como ficou conhecida, permitiu a modelagem de muitas outras populações tais como: animais, plantas, insetos, vírus, bactérias e dentre outras (SOUZA; FILHO, 2020).

Diversos cientistas e estudiosos foram além da equação logística proposta por Verhulst. E foi neste contexto matemático que os cientistas Lotka e Volterra desenvolveram seus estudos para lidar com diversos problemas ocasionados pelo crescimento populacional desordenado de espécimes diferentes como presa e predador por exemplo (PATA et al., 2017). Havia uma batalha sendo travada pela sobrevivência entre presa e predador no qual a luta pela existência era a melhor recompensa.

Os estudos da modelagem de presa e predador (BÄR, 2021), contribuíram e muito para o desenvolvimento de outras modelagens matemáticas com o objetivo de compreender, aprimorar e controlar populações de muitas outras espécies. O fato curioso desta época, por exemplo, é que Lotka e Volterra (RAFIKOV, 2003) não se conheciam e muito menos os trabalhos um do outro. No entanto, suas modelagens, estudos e resultados para o caso de presa e predador, se concluíram quase que ao mesmo tempo.

Do ponto de vista da luta pela existência entre presa ou predador, a competição entre espécies diferentes pode ser vista como um jogo no qual a luta pela sobrevivência dos mais aptos, significa a perpetuação da sua espécie. De acordo com o livro a Teoria de Jogos Evolutivos (Evolutionary Game Theory) publicado por Vincent e Brown (2005), toda a vida é um jogo e a evolução por seleção natural não é exceção. Os jogos têm: jogadores, estratégias, recompensas e regras. No jogo da vida, os organismos são os jogadores, seus traços hereditários fornecem estratégias, seus nascimentos e mortes são as recompensas, e o ambiente define as regras. A Teoria de Jogos Evolutivos desenvolvida fornece as ferramentas necessárias para a compreensão de muitos dos mistérios da natureza. Estes incluem coevolução, especiação e extinção, bem como as principais questões biológicas sobre ajuste de forma e função, diversidade de vida, procissão de vida, distribuição e

abundância de vida. A matemática para o jogo evolutivo é desenvolvida com base nos postulados de Darwin (ENCARNAÇÃO et al., 2019).

De acordo com Sartini et al. (2004), a teoria dos jogos é uma teoria matemática criada para se modelar fenômenos que podem ser observados quando dois ou mais agentes de decisão interagem entre si. Ela fornece a linguagem para a descrição de processos de decisão conscientes e objetivos envolvendo mais do que um indivíduo.

OBJETIVO DO TRABALHO

O objetivo deste trabalho é apresentar novas estratégias de controle para a eliminação da população do patógeno *Giardia lamblia*. Para isso, um modelo matemático inspirado em Li, Lenaghan e Zhang (2013), é utilizado como referência. Entretanto, neste modelo, mesmo exterminando-se toda a população do protozoário, ainda assim era admitido a mutação deste parasito. Nesta Dissertação propõe acabar com este problema de mutação e garantir as mesmas propriedades do modelo inspirado.

METODOLOGIA

A metodologia utilizada neste projeto segue os seguintes passos:

- Trabalho com base em um modelo matemático para sistemas biológicos baseado na Teoria de Jogos Evolutivos;
- Análise da curva de crescimento de trofozoítos de *G. lamblia* (modelo biológico) expostos ao metronidazol;
- Desenvolvimento de novas estratégias de controle para exterminar o protozoário;
- Demonstração das propriedades de estabilidade das leis de controle através de teoremas e suas respectivas provas;
- Apresentação de simulações para ilustrar o comportamento das variáveis do sistema em malha fechada;
- Validação experimental das estratégias de controle propostas.

ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

O **Capítulo 1** apresenta o ciclo biológico, transmissão e tratamento da *Giardia lamblia*.

O **Capítulo 2** apresenta a modelagem da planta, seus parâmetros e hipóteses.

No **Capítulo 3** é projetado um observador da norma com objetivo de se obter um majorante para a variável não mensurável do estado diante das dificuldade imposta ao projeto. É desenvolvida e apresentada uma lei de controle. As propriedades de estabilidade desta lei é demonstrada através de teoremas e suas respectivas provas.

No **Capítulo 4** é apresentado o controle da dosagem do medicamento metronidazol, além de sua convergência assintótica.

No **Capítulo 5** são apresentados os resultados, as simulações e os experimentos realizados em laboratório com cultivo de trofozoítos em cultura.

No **Capítulo 6** conclusões são apresentadas nas quais são destacadas as contribuições e sugestões para trabalhos futuros. Os apêndices **A** e **B** trazem detalhes matemáticos dos modelos populacionais existentes na literatura, assim como o passo a passo do protocolo experimental utilizado.

1 CICLO BIOLÓGICO, TRANSMISSÃO E TRATAMENTO

Giardia lamblia é um enteroparasito com distribuição global, de caráter zoonótico, transmissível por via hídrica ou contato direto intra e interespecífico (SILVA et al., 2017), causador e responsável pela doença giardíase. Este protozoário é dividido em espécies de acordo com as características morfológicas e moleculares de infecção ao seu hospedeiro. A espécie *G. lamblia* (sinonímia *Giardia intestinalis*, *Giardia duodenalis*, *lamblia intestinalis*) é responsável pela doença giardíase nos mamíferos, animais domésticos e seres humanos.

1.1 Ciclo Biológico e Transmissão de *Giardia lamblia*

O parasita *G. lamblia* tem duas formas evolutivas: cisto e trofozoíto. A infecção começa pela ingestão de cistos presente na água ou em superfícies de alimentos contaminados. Este cisto, ao passar pela região do estômago, inicia um processo de desencistamento e nas primeiras porções do intestino delgado assume a forma trofozoíta. Os trofozoítos proliferam (por divisão binária) e colonizam o duodeno. Quando transportados pelo fluxo intestinal, iniciam o encistamento e são liberados nas fezes na forma de cisto já infectante (CARRANZA; LUJAN, 2010).

A infecção por *G. lamblia* tem distribuição global e nos países em desenvolvimento, as taxas de transmissão estão intimamente relacionada com as más condições de saneamento básico de acordo Guimarães e Sogayar (2002), Junior, Kaiser e Catisti (2013).

Os sintomas mais frequentes da giardíase são consequência de diarreia aguda ou crônica, como cólica abdominal, flatulência, desidratação, náuseas, vômitos e fadiga (THOMPSON; REYNOLDSON; MENDIS, 1993; FENG; XIAO, 2011).

Estima-se que 35,1% dos surtos de diarreia por meio de água contaminada são devidos a infecções por *G. lamblia* (BALDURSSON; KARANIS, 2011). Além disso, a exposição prolongada ao parasita pode causar atraso no desenvolvimento físico e cognitivo, além de provocar déficits nutricionais (FARTHING, 1996; BERKMAN et al., 2002).

Na Figura 2 é apresentado o ciclo biológico da *Giardia lamblia* e suas formas evolutivas.

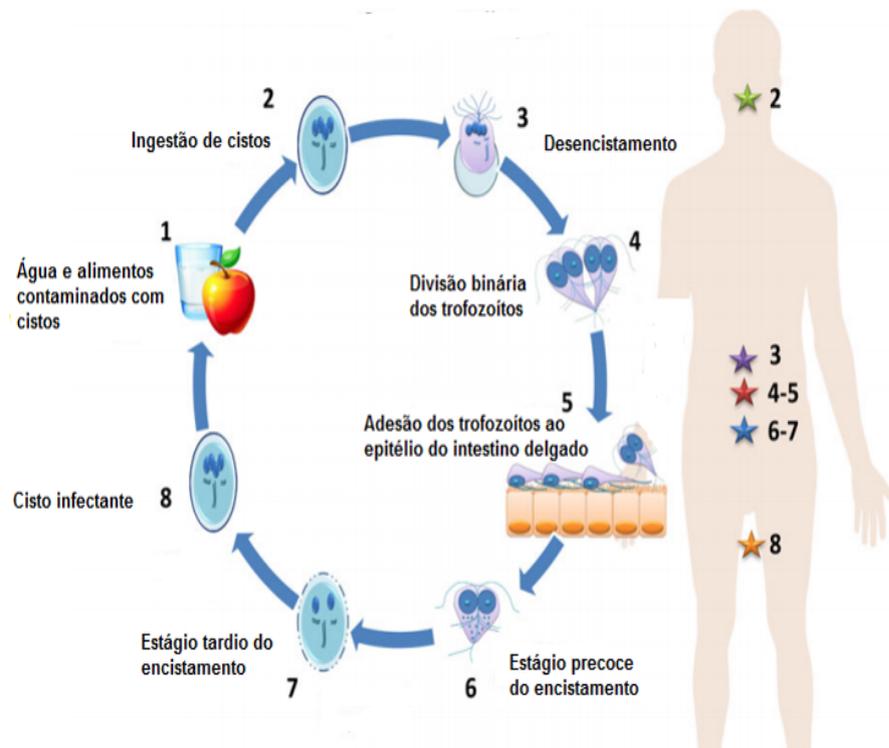


Figura 2: Ciclo biológico de *Giardia lamblia*

Fonte: Adaptado de www.dpd.cdc.gov/dpdx

G. lamblia, criptosporídeo e rotavírus são os principais responsáveis por surtos de diarreia em frequentadores de creche no mundo, sobretudo em menores de dois anos de idade, podendo levar à desidratação (ORGANIZATION et al., 1997). Sua transmissão é favorecida por ambientes de aglomeração, e, neste sentido, as creches recebem destaque. Nestas instituições o contato interpessoal (criança-criança, criança-funcionário, funcionário-funcionário) quando associado a condições precárias de saneamento básico, estrutura física inadequada e funcionários mal treinados, podem facilitar a disseminação desta infecção (SEMPERTEGUI et al., 1995). Além disso, crianças pré-escolares constituem um grupo de alta susceptibilidade em virtude de características intrínsecas da sua faixa etária, como a fase de exploração oral, dependência higiênica e um sistema imune pouco estimulado (FRANCO; CORDEIRO, 1996).

1.2 Tratamento da infecção por *Giardia lamblia*

A infecção por *G. lamblia* é assintomática na maior parte dos casos, o que dificulta o diagnóstico e o tratamento dos indivíduos infectados. O tratamento de casos assintomáticos ainda é muito discutido e não há consenso sobre o tema (HUANG; WHITE, 2006). Todavia, a tendência é que tanto pacientes sintomáticos quanto assintomáticos devam ser tratados, uma vez que ambos podem eliminar cistos no ambiente e disseminar o protozoário (TB; DR, 2001; NASH et al., 2001; WRIGHT, 2012).

Existem medicamentos disponíveis no mercado para o tratamento da infecção por *G. lamblia* (Stover et al. 2012). Entretanto, nenhum destes fármacos foi idealizado e desenvolvido para o tratamento da giardíase.

O principal grupo de medicamentos utilizados são os derivados dos nitroimidazóis, que incluem tinidazol, ornidazol, secnidazol e, o mais amplamente utilizado, metronidazol (HILL, 1993; FARTHING, 1996). O albendazol também é largamente utilizado, principalmente no Brasil, pois, junto ao metronidazol, é disponibilizado nos postos de saúde. Outras investigações estão em andamento a fim de verificar o potencial giardicida principalmente de outros anti-parasitários, assim como plantas e outros produtos naturais (EDLIND; HANG; CHAKRABORTY, 1990; LEMÉE et al., 2000). O uso da nitazoxanida tem crescido em virtude do seu efeito em um amplo espectro parasitário. A paromomicina, quinacrina e furazolidona podem ser adotados como tratamento alternativo (ESCOBEDO; CIMERMAN, 2007).

O metronidazol é o medicamento mais usada no mundo para o tratamento da giardíase. Esse é o medicamento de primeira escolha recomendado pelo Ministério da Saúde no Brasil. Na maioria dos casos, o tratamento é eficaz, no entanto, o número de casos de infecção persistente após o uso do fármaco tem crescido (NABARRO et al., 2015; FANTINATTI et al., 2020). Neste contexto, mais estudos precisam ser realizados para elucidar os reais efeitos da ação do fármaco sobre o parasita, auxiliando na compreensão dos casos refratários ao tratamento.

2 MODELAGEM MATEMÁTICA

Em Li, Lenaghan e Zhang (2013), um modelo matemático para sistemas biológicos sujeitos a dinâmicas que exibem comportamento de mutação foi desenvolvido baseado na Teoria de Jogos Evolutivos. Além disso, uma estratégia de controle ótimo foi desenvolvida e validada para a entrega de drogas usando o patógeno em questão como um caso teste. O modelo obtido para *G. lamblia* é validado experimentalmente e retrata muito bem o comportamento do protozoário *in vitro*. No entanto, a lei de controle empregada neste estudo, assume que todos os parâmetros e variáveis de estado são conhecidas.

2.1 Formulação do Problema

O modelo matemático descrito pelas equações (2.1) - (2.4), que descreve o comportamento populacional de *G. lamblia*, leva em consideração a resistência à droga (mutação parasitária) e dosagem da droga (metronidazol) (LI; LENAGHAN; ZHANG, 2013). O crescimento de *G. lamblia* é afetado por diversos fatores: a taxa de crescimento $r(t)$ e a capacidade de suporte K que vem da limitação de recursos no caso do não uso de drogas. Este por último é definido como nível limiar da população (UPCROFT; UPCROFT; BOREHAM, 1990; UPCROFT, 1998; MOONEY; SWIFT, 2021).

O estado da planta $x \in R^2$, é definido por:

$$x = [x_1 \quad x_2]^T$$

$$\dot{x}_1 = r(t)x_1 \left(1 - \frac{x_1}{k} \right) \quad (2.1)$$

Sendo:

- \dot{x}_1 a taxa de concentração da população de *G. lamblia* dado em [Células/ml];
- x_1 a concentração da população da *G. lamblia* dado em [Células/ml];
- $r(t)$ a taxa de crescimento populacional;
- k a limitação de recursos.

A variável de mutação dinâmica $x_2(t)$ dada é:

$$\dot{x}_2 = -\sigma^2 \beta_m x_2(t) + \frac{\sigma^2 \beta_m \sqrt{\omega_m}}{\sqrt{2}} \exp\left(-\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right) \frac{x_1(t)}{k}, \quad (2.2)$$

sendo:

- \dot{x}_2 a taxa de mutação dinâmica;
- x_2 a mutação dinâmica;
- x_1 a concentração da população da *G. lamblia* dado em [Células/ml];
- β_m o coeficiente de resistência a drogas;
- σ a velocidade de mutação;
- e ω_m o coeficiente de mutação.

A saída da planta $y(t) \in R$ é definida como:

$$y(t) = x_1, \quad (2.3)$$

A população de *G. lamblia* $x_1(t)$ [Células/ml] é fortemente influenciada pela taxa de crescimento variável no tempo dada por:

$$r(t) = r_0 \frac{x_1(t)}{k} + \beta_m x_2(t) \exp\left(-\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right) - \beta_d u(t), \quad (2.4)$$

sendo:

- r_0 a taxa de crescimento natural.
- β_d o coeficiente de eficiência de medicamento; e
- $u(t)$ a entrada de controle $\in R$.

Como discutido em Li, Lenaghan e Zhang (2013), a taxa de crescimento natural $r_0 > 0$, representa o caso de nenhuma mutação e nenhuma droga. A variável $x_2(t) \in R$ é a resistência ao medicamento por mutação, enquanto que $\beta_m > 0$ é a taxa de resistência as drogas. O sinal de entrada é a dosagem de metronidazol $u(t) \in R$ [ug/ml] e a constante $\beta_d > 0$ representa a eficiência do fármaco.

A seguir, três hipóteses serão considerada.

2.2 Hipoteses

(A1) Todos os parâmetros da planta **(2.1) – (2.4)** são incertos. Na prática, os sistemas biológicos podem variar significativamente seus parâmetros durante o processo experimental. Assim, a hipótese (A1) é importante para garantir a robustez ao sistema em malha fechada. Além disso, o projetista deve ficar atento para evitar uma superestimação, o qual levaria o controle a um maior esforço.

(A2) Apenas a saída $y(t)$ está disponível para realimentação no projeto de controle. Devido a restrições financeiras e/ou físicas, a medição do estado raramente é possível. Por exemplo, neste trabalho, a variável de estado $x_2(t)$ representa um comportamento de mutação de uma população de protozoários que obviamente não pode ser medida na prática.

(A3) O projeto de controle deve levar em conta a natureza estritamente positiva do problema, ou seja, $u(t) \geq 0$ para todo instante de tempo t . Como o sinal de controle é o fármaco fornecido a um organismo, não se pode considerar ações de controle negativa.

Nesta Dissertação, o objetivo é projetar uma lei de controle via realimentação de saída para o sistema não-linear incerto **(2.1) – (2.4)**, tal que para o sistema em malha fechada, a saída $y(t)$ convirja para zero. Para superar a não-medição do estado, na próxima seção o projeto de um limitante superior para o módulo da variável $x_2(t)$ é apresentado.

3 OBSERVADOR DE NORMA DA VARIÁVEL NÃO MEDIDA

O observador de norma é uma ferramenta importante no processo de obtenção de um limitante superior para norma de uma variável indisponível *a priori*. A ideia básica é fornecer uma estimativa a partir dos sinais disponíveis e dos limitantes inferiores e superiores dos parâmetros desconhecidos do modelo.

Geralmente é obtido por uma filtração apropriada da norma de sinais disponíveis e assim os observadores de norma são também comumente chamados de Filtros de Aproximação de Primeira Ordem (*first order approximation filters*) (CUNHA; COSTA; HSU, 2008).

3.1 Observador de norma da variável não medida $x_2(t)$

O Lema 1 a seguir mostra como o observador de norma apresenta um limitante superior para a norma instantânea da variável não medida $x_2(t)$. Logo, a solução de:

$$\dot{\hat{x}}_2 = -\lambda\hat{x}_2(t) + \gamma|y(t)|, \quad (3.1)$$

com escalares $\lambda \in (0, \sigma^2\beta_m)$ e $\gamma \in \left(\frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{K\sqrt{2}}, +\infty\right)$ é um limite superior para o valor absoluto da variável de estado $x_2(t)$, tal que:

$$|x_2(t)| \leq \hat{x}_2(t) + \pi(t), \quad \forall t \geq 0, \quad (3.2)$$

sendo $\pi(t)$ um termo exponencialmente decrescente dependendo das condições iniciais $x_2(0)$ e $\hat{x}_2(0)$, com $x_2(t)$ sendo a solução de (2.2).

Lema 1. Considere o sistema (2.1) – (2.4) satisfazendo (A.1) – (A.3). Assim, usando o observador de norma (3.1), é possível encontrar o limite superior dinâmico $\hat{x}_2(t)$ para $x_2(t)$ tal que a desigualdade (3.2) é garantida.

Demonstração. Prova. Considere a seguinte função de Lyapunov:

$$V_{x_2} = x_2^2, \quad (3.3)$$

Tomando-se sua derivada temporal da equação **(3.3)**, segue:

$$\dot{V}_{x_2} = 2x_2(t)\dot{x}_2(t), \quad (3.4)$$

$$= 2|x_2(t)|\frac{d|x_2(t)|}{dt}, \quad (3.5)$$

$$= 2|x_2(t)| \left[-\sigma^2\beta_m x_2(t) + \frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{\sqrt{2}} \exp\left(-\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right) \frac{x_1(t)}{k} \right], \quad (3.6)$$

$$= 2 \left[-\sigma^2\beta_m x_2^2(t) + \frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{\sqrt{2}} x_2(t) \exp\left(-\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right) \frac{x_1(t)}{k} \right]. \quad (3.7)$$

Uma vez que $\exp\left(-\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right) \in [0, 1]$ e $\left(\frac{x_1(t)}{k}\right) \in [0, 1]$, a equação **(3.7)** é um limitante superior satisfazendo

$$\begin{aligned} \dot{V}_{x_2} &\leq 2 \left[-\sigma^2\beta_m x_2^2(t) + \frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{k\sqrt{2}} |x_1(t)||x_2(t)| \right], \\ &\leq 2|x_2(t)| \left[-\sigma^2\beta_m x_2(t) + \frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{k\sqrt{2}} |y(t)| \right]. \end{aligned} \quad (3.8)$$

Por comparação de **(3.5)** e **(3.8)**, e usando os escalares $\lambda \in (0, \sigma^2\beta_m)$ e $\gamma \in \left(\frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{K\sqrt{2}}, +\infty\right)$, é possível encontrar o seguinte limitante superior:

$$\begin{aligned} \frac{d|x_2(t)|}{dt} &\leq -\sigma^2\beta_m|x_2(t)| + \frac{\sigma^2\beta_m\sqrt{\omega_m}}{k\sqrt{2}}|y(t)| \\ &\leq -\lambda|x_2(t)| + \gamma|y(t)|. \end{aligned} \quad (3.9)$$

Então, invocando o Lema da comparação (KHALIL, 2002), a solução de $\hat{x}_2(t)$ em **(3.1)** é um limitante superior para $|x_2(t)|$ uma vez que

Subtraindo-se **(3.1)** de **(3.9)**, tem-se a seguinte desigualdade diferencial

$$\frac{d}{dt} (|x_2(t)| - \hat{x}_2(t)) \leq -\lambda(|x_2(t)| - \hat{x}_2(t)) \quad (3.10)$$

Agora invocamos o Lema da comparação cuja demonstração pode ser vista no Apêndice C.2 (KHALIL, 2002).

Tomando-se:

$$v(t) = (|x_2(t)| - \hat{x}_2(t))$$

logo, substituindo-se $v(t)$ na equação **(3.10)** ficamos com:

$$\dot{v}(t) = -\lambda v(t).$$

Vemos que a solução da EDO linear de primeira ordem $\dot{u} = -\lambda u$ é dada por $u = u_0 e^{-\lambda t}$. Assim, pelo Lema da comparação tem-se que $v(t) \leq u(t)$, isto é ,

$$|x_2(t)| - \hat{x}_2(t) \leq u_0 e^{-\lambda t}$$

Em particular, se

$$|x_2(0)| - \hat{x}_2(0) \leq u_0,$$

conclui-se que

$$|x_2(t)| - \hat{x}_2(t) \leq e^{-\lambda t} (|x_2(0)| - \hat{x}_2(0)). \quad (3.11)$$

Assim sendo, obtem-se

$$|x_2(t)| \leq \hat{x}_2(t) + \underbrace{e^{-\lambda t} (|x_2(0)| - |\hat{x}_2(0)|)}_{\pi(t)}, \quad (3.12)$$

completando a demonstração ao se notar que

$$\pi(t) = e^{-\lambda t} (|x_2(0)| - |\hat{x}_2(0)|)$$

é um termo exponencialmente decrescente que completa a prova. □

4 CONTROLE DE DOSAGEM DE MEDICAMENTOS

Como discutido nos capítulos anteriores, o metronidazol é o medicamento mais comumente usado no tratamento de giardíase em todo o mundo (TB; DR, 2001). Ensaios clínicos empregam dosagem convencionais (geralmente 250 mg/dose) duas ou três vezes ao dia (por cinco a dez dias), em curta duração (por um a três dias), com terapia diária de dose única (2,0 ou 2,4 g/dose) (GARDNER; HILL, 2001). Nos esquemas de cinco a dez dias, a eficácia varia de 60% a 100% em pacientes adultos, com mediana de 92%. Para crianças submetidas a doses entre 15 e 22,5 mg/kg/dia para regimes de cinco a dez dias, a eficácia oscila entre 80 a 100% com uma eficácia mediana de 92%.

Por outro lado, os tratamentos de dose única e de curta duração (uma dose alta administrada diariamente) foram propostos para melhorar a adesão sem sacrificar a eficácia. Eles foram usados em adultos e crianças. Estes regimes são geralmente menos eficazes, particularmente se apenas uma dose de metronidazol é administrada. A eficácia da terapia de dose única varia de 36 a 60% se a droga for administrada por um dia, sobe para 67 a 80% se a droga for administrada por dois dias e 93 a 100% por três dias de tratamento.

As Tabelas de 1 a 4 resumem as informações citadas acima.

Paciente	Dosagem diária	Duração em dias	eficacia	eficacia mediana
Pediátrico	alta dose por dia	1 dia	36% a 60%	baixa
Adulto	alta dose por dia	1 dia	36% a 60%	baixa

Tabela 1: Dosagem Única de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos

Paciente	Dosagem diária	Duração em dias	eficacia	eficacia mediana
Pediátrico	alta dose por dia	2 dia	67% a 80%	média
Adulto	alta dose por dia	2 dia	67% a 80%	média

Tabela 2: Dosagem Curta de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos

Paciente	Dosagem diária	Duração em dias	eficacia	eficacia mediana
Pediátrico	alta dose por dia	3 dia	93% a 100%	alta
Adulto	alta dose por dia	3 dia	93% a 100%	alta

Tabela 3: Dosagem Curta de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos

Paciente	Dosagem diária	Duração em dias	eficacia	eficacia mediana
Pediátrico	15 e 22,5mg/kg/dia	5 a 10 dias	80% a 100%	92%
Adulto	250 mg de 2 a 3 dias	5 a 10 dias	60% a 100%	92%

Tabela 4: Dosagem Convencional de Metronidazol para Pacientes Pediátricos e Adultos

A resistência clínica e a falha no tratamento frente à infecção por *G. lamblia* ao fármaco antiparasitário metronidazol têm sido relatados em até 20% dos casos (FARTHING, 1996) com taxas de recorrência tão altas quanto 90% (ZAAT; MANK; ASSENDELFT, 1997).

De fato a resistência ao metronidazol pode ser facilmente induzida *in vitro* por trofozoítos em crescimento em uma concentração sub-letal da droga (BOREHAM; PHILLIPS; SHEPHERD, 1988).

Ainda neste capítulo, estratégias para o controle de dosagem do fármaco metronidazol serão empregadas para estudo da dinâmica populacional de *G. lamblia in vitro*. A Subseção 4.1 trata da convergência assintótica da variável $y(t)$ enquanto que na Subseção 4.2 a convergência do vetor completo $x(t)$ é garantida.

4.1 Convergência Assintótica

Nesta subseção, a seguinte lei de controle é proposta com a finalidade de assegurar a convergência assintótica para zero da variável de saída $y(t)$ da população de *G. lamblia*:

$$u = \frac{\bar{r}_0|y(t)| + \bar{\beta}_m|\hat{x}_2(t)| + \eta}{\underline{\beta}_d}, \quad (4.1)$$

onde $\bar{r}_0 \geq r_0$, $\bar{\beta}_m \geq \beta_m$, $\underline{\beta}_d \leq \beta_d$ e $\eta > 0$.

A lei (4.1) é capaz de garantir a estabilização de saída $y(t)$ de tal forma que:

$$y(t) \leq C_1 e^{-\delta_1 t} \quad , \quad t \geq 0 \quad (4.2)$$

Com C_1 e δ_1 sendo constantes positivas. Os resultados principais são resumidos no teorema a seguir.

Teorema 1. Considere o sistema (2.1)-(2.4), a lei de controle \mathbf{u} em (4.1), observador de norma para a *G. lamblia* (3.1) e as hipóteses (A1) - (A3) sejam satisfeitas. Então, o sinal de saída (2.3) converge para zero exponencialmente tal que (4.2) é verificada e o estado $\mathbf{x}(t)$ é uniformemente limitado.

Demonstração. Prova. Considere a seguinte função de Lyapunov:

$$V_2(t) = y^2(t). \quad (4.3)$$

sendo sua derivada temporal satisfaz:

$$\begin{aligned} \dot{V}_2(t) &= 2y(t)\dot{y}(t), \quad (4.4) \\ &\leq 2 \left(\frac{r_0 x_1(t)}{k} + \beta_m |x_2| e^{-\left(\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right)} - \beta_d u(t) \right) y^2 \left(1 - \frac{y(t)}{k} \right). \end{aligned}$$

De (A1), lembrando-se que $e^{-\left(\frac{x_2^2(t)}{\omega_m}\right)} \leq 1$, e definindo as constantes positivas $\bar{r}_0 > \frac{r}{K}$, $\bar{\beta}_m > \beta_m$ e $\underline{\beta}_d < \beta_d$ é possível escrever:

$$\dot{V}_2(t) \leq 2 \left(\bar{r}_0 |y(t)| + \bar{\beta}_m |x_2(t)| - \underline{\beta}_d u(t) \right) y^2 \left(1 - \frac{y(t)}{k} \right). \quad (4.5)$$

Usando o observador de norma (3.2) para estratégia da *G. lamblia*, a desigualdade (4.5) é majorada por:

$$\dot{V}_2(t) \leq 2 \left(\bar{r}_0 |y(t)| + \bar{\beta}_m (\hat{x}_2(t) + \pi(t)) - \underline{\beta}_d u(t) \right) y^2 \left(1 - \frac{y(t)}{k} \right),$$

Tome uma constante positiva η suficientemente grande tal que esta mesma constante satisfaça $\eta > \bar{\beta}_m |x_2(0)| + \bar{\beta}_m |\hat{x}_2(0)|$, por exemplo $\eta = \bar{\beta}_m |x_2(0)| + \bar{\beta}_m |\hat{x}_2(0)| + \delta$, onde δ é

uma constante positiva pequena. Então, usando a lei de controle **(4.1)**, pode-se encontrar:

$$\dot{V}_2(t) \leq 2 (\bar{r}_0|y(t)| + \bar{\beta}_m (\hat{x}_2(t) + \pi(t)) - \underline{\beta}_d) (\bar{r}_0|y(t)| + \bar{\beta}_m \hat{x}_2(t) + \eta) y^2 \left(1 - \frac{y(t)}{k}\right),$$

$$\dot{V}_2(t) \leq 2 (\bar{\beta}_m \pi(t) - \eta) y^2 \left(1 - \frac{y(t)}{k}\right),$$

como

$$\pi(t) = e^{-\lambda t} (|x_2(0)| - |\hat{x}_2(0)|)$$

e

$$\eta = \beta_m |x_2(0)| + \beta_m |\hat{x}_2(0)| + \delta$$

Substituindo π e η na parcela $\bar{\beta}_m \pi(t) - \eta$ com isso:

$$\bar{\beta}_m \pi(t) - \eta = \bar{\beta}_m e^{-\lambda t} |x_2(0)| - \bar{\beta}_m e^{-\lambda t} |\hat{x}_2(0)| - \bar{\beta}_m |x_2(0)| - \bar{\beta}_m |\hat{x}_2(0)| - \delta$$

As parcelas em destaque no lado esquerdo da desigualdade a seguir, assumem que ambas são ≤ 0 e

$$\underbrace{\bar{\beta}_m |x_2(0)| (e^{-\lambda t} - 1)} - \underbrace{\bar{\beta}_m |\hat{x}_2(0)| (e^{-\lambda t} + 1)} - \delta \leq -\delta$$

logo $-\delta \leq -\delta$, assim

$$\dot{V}_2 \leq -2\delta y^2(t) \left(1 - \frac{y}{k}\right). \quad (4.6)$$

Comparando-se **(4.6)** com **(4.4)**, é claro que:

$$\dot{y} \leq -\delta y(t) \left(1 - \frac{y(t)}{k}\right). \quad (4.7)$$

Portanto, aplicando-se o Lema de Comparação (KHALIL, 2002), um limite superior \bar{y}_1 para y é obtido pela solução do sistema dinâmico:

$$\dot{\bar{y}} = -\delta \bar{y}(t) \left(1 - \frac{\bar{y}(t)}{k}\right), \quad t \geq 0, \quad \bar{y}(0) = |y(0)|. \quad (4.8)$$

A equação diferencial não linear (4.8) é uma equação de Riccati cuja solução é dada por:

$$\bar{y}(t) = \frac{y(0)}{1 - \frac{y(0)}{K}(e^{-\delta t} - 1)} e^{-\delta t}, \quad t \geq 0. \quad (4.9)$$

Como $\bar{y}(t)$ é um majorante para $y(t)$, temos que, $y(t) \leq \bar{y}(t)$, e conseqüentemente

$$\begin{aligned} y(t) &\leq \frac{y(0)}{1 - \frac{y(0)}{K}(e^{-\delta t} - 1)} e^{-\delta t} \\ &\leq y(0)e^{-\delta t}, \quad t \geq 0. \end{aligned}$$

Assim, a prova do Teorema 1 está finalizada. □

4.2 Propriedade Input-to-State-Stability (ISS) do Sistema em Malha Fechada

Corolário 1. Considere a planta (2.1)-(2.4), a lei de controle \mathbf{u} em (4.1), o observador de norma para a *G. lamblia* (3.1)-(3.2) e que as hipóteses (A1)-(A3) sejam satisfeitas. A partir do Lema 1, o limitante superior $\hat{x}_2(t)$ para o estado não-medido $x_2(t)$, dada pela solução de (3.1), é ISS em relação a $x_1(t)$.

Assim a partir do Teorema 1 a variável de estado $x_1(t)$ converge exponencialmente a zero. Então, $x_2(t)$ também vai à zero exponencialmente.

A Figura 3 apresenta um diagrama de blocos da planta, do observador de norma e a ação do controlador por meio de realimentação de saída.

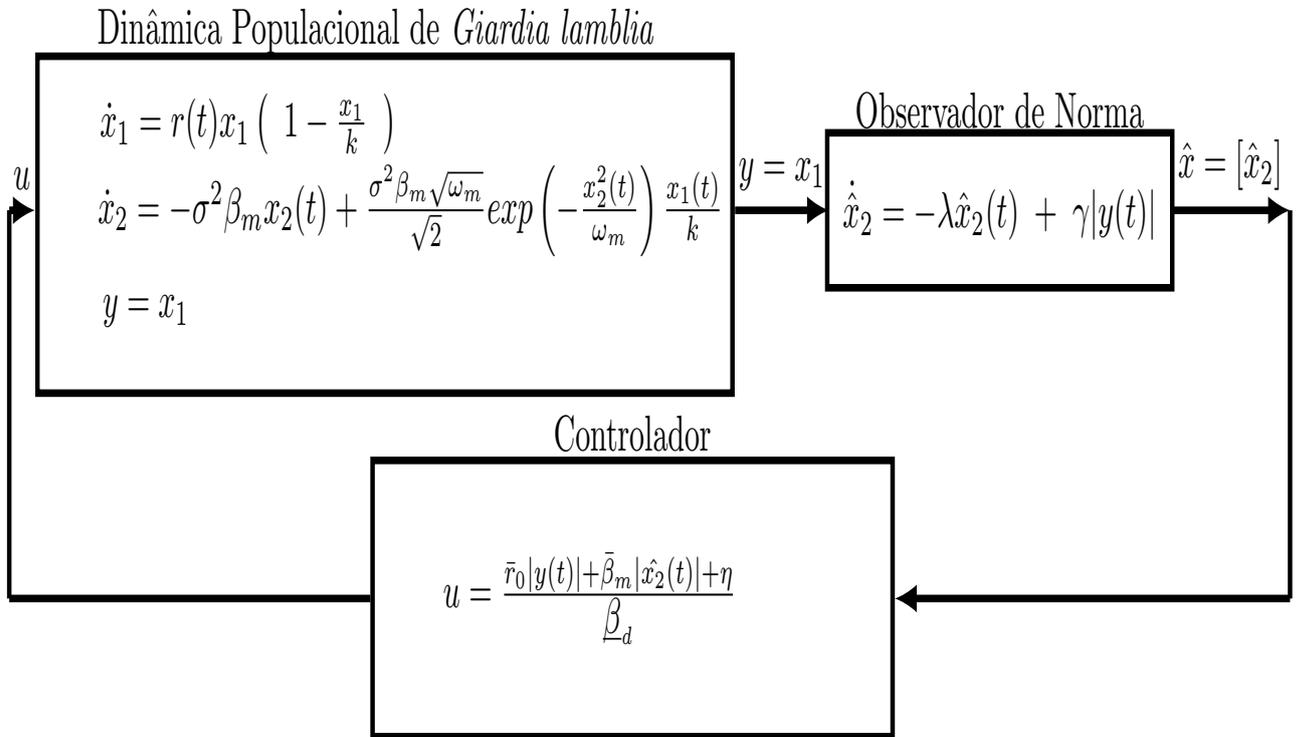


Figura 3: - Controle por realimentação de saída.

5 RESULTADOS, SIMULAÇÕES E EXPERIMENTOS

Neste capítulo são apresentados os resultados de simulação obtidos para o sistema em malha fechada constituído pela planta (2.1)-(2.4) e a lei de controle (4.1).

Em todas as simulações apresentadas, considerou-se os valores dos parâmetros da planta como os que serão apresentados na Tabela 5.

Parâmetros da Simulação	Valores da Simulação
$x_1(0)$ condições iniciais	10^5 células/ml
$x_2(0)$ condições iniciais	4,80
$\hat{x}_2(0)$ condições iniciais	11,25
k	$6,596 \times 10^7 \text{ células/ml}$
r_0	0,179527
\bar{r}_0	3×10^{-9}
β_m	0,04162605
$\bar{\beta}_m$	0,05
β_d	0,000874109
$\underline{\beta}_d$	0,007
ω_m	45,8677
σ	0,52947229225
δ	0,024
λ	$1,14 \times 10^{-2}$
γ	$1,70 \times 10^{-9}$
η	0,024

Tabela 5: Parâmetros da Simulação.

5.1 Comportamento da População de *G. lamblia* na Ausência de Metronidazol

Nesta seção, apresenta-se resultados de simulação numérica sem qualquer medicamento adicionada à cultura. As Figuras 4 e 5 apresentam o crescimento dos trofozoítos e seu processo de mutação.

Observa-se o aumento exponencial sem a administração do fármaco na simulação. Depois de um certo tempo, a população de *G. lamblia* $y(t) = x_1(t)$ atinge o valor da

capacidade de carga k e a variável de estado $x_2(t)$ tende para $\sqrt{\frac{\omega_m}{2}}$.

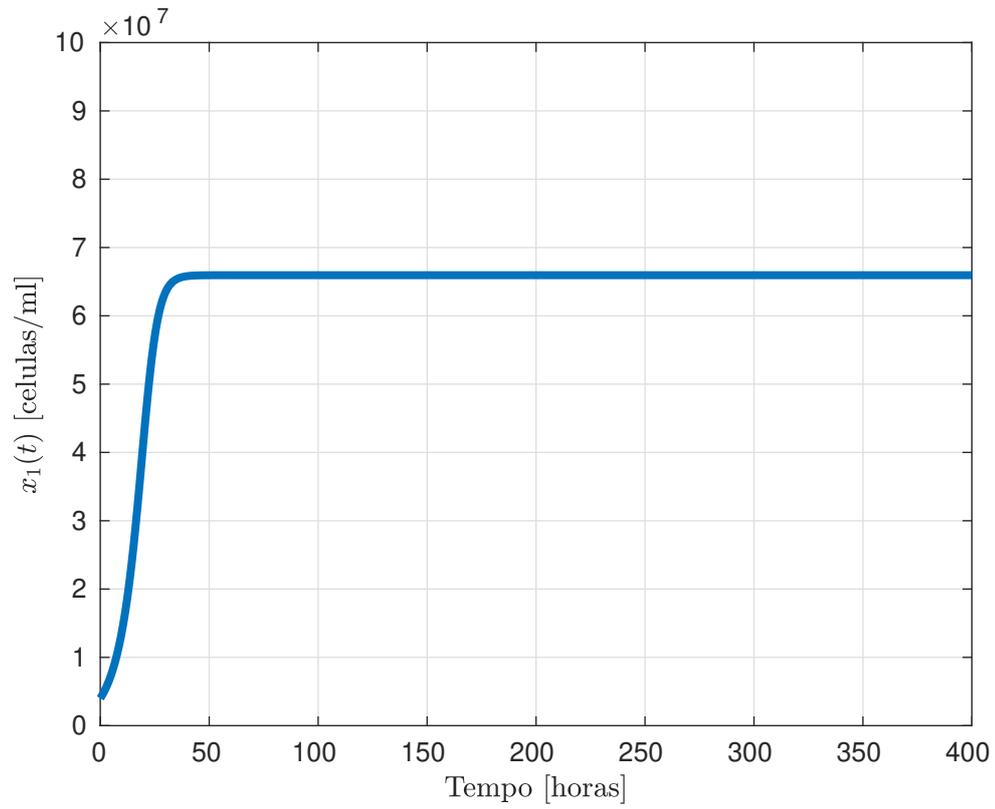


Figura 4: Crescimento populacional livre - sem medicamento.

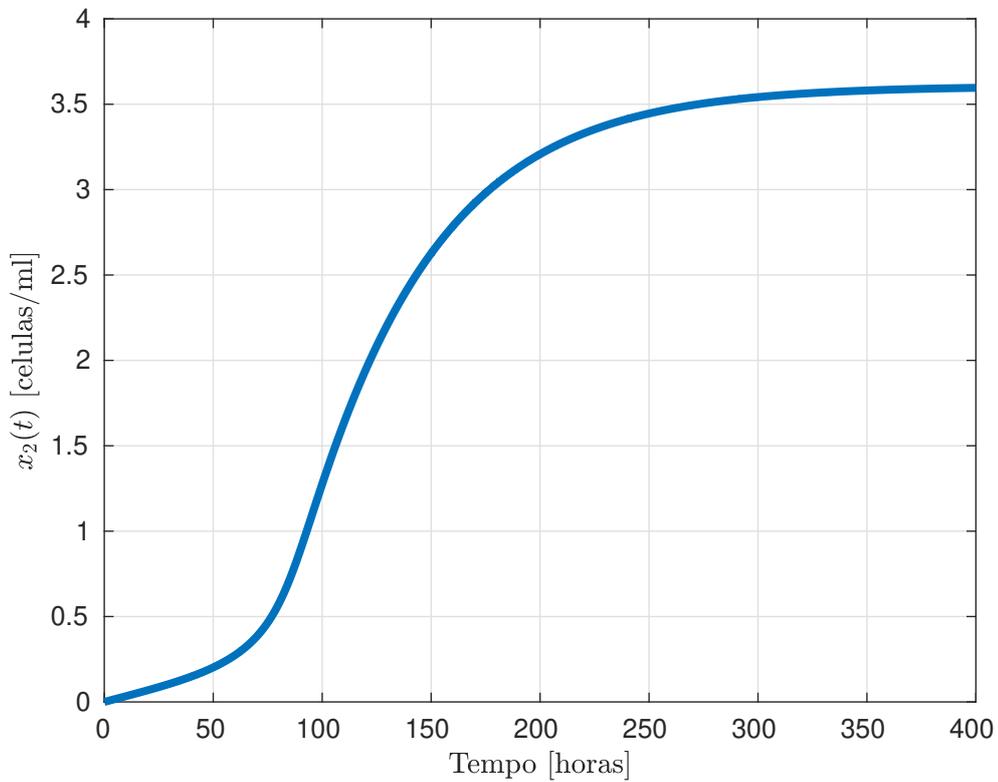


Figura 5: Mutação dinâmica com limite $\sqrt{\frac{\omega_m}{2}}$.

5.2 Comportamento da População de *G. lamblia* na Presença de Doses Constantes de Metronidazol

Agora, o fármaco é fixado representando a estratégia de dosagem constante a cada instante de tempo. É fácil verificar que, se todos os parâmetros da planta (2.1)-(2.4) forem conhecidos, é possível observar que a lei de controle

$$u(t) = \frac{r_0 + \beta_m \sqrt{\frac{\omega_m}{2}} + \eta}{\beta_d}, \quad \forall t \geq 0, \quad (5.1)$$

garante, em malha fechada, que $y(t) \leq y(0)e^{-\delta t}$ para todo $t \geq 0$.

Observa-se que na Figura 6, a população de *G. lamblia* diminui rapidamente quando a dosagem do fármaco é administrada pela lei (5.1).

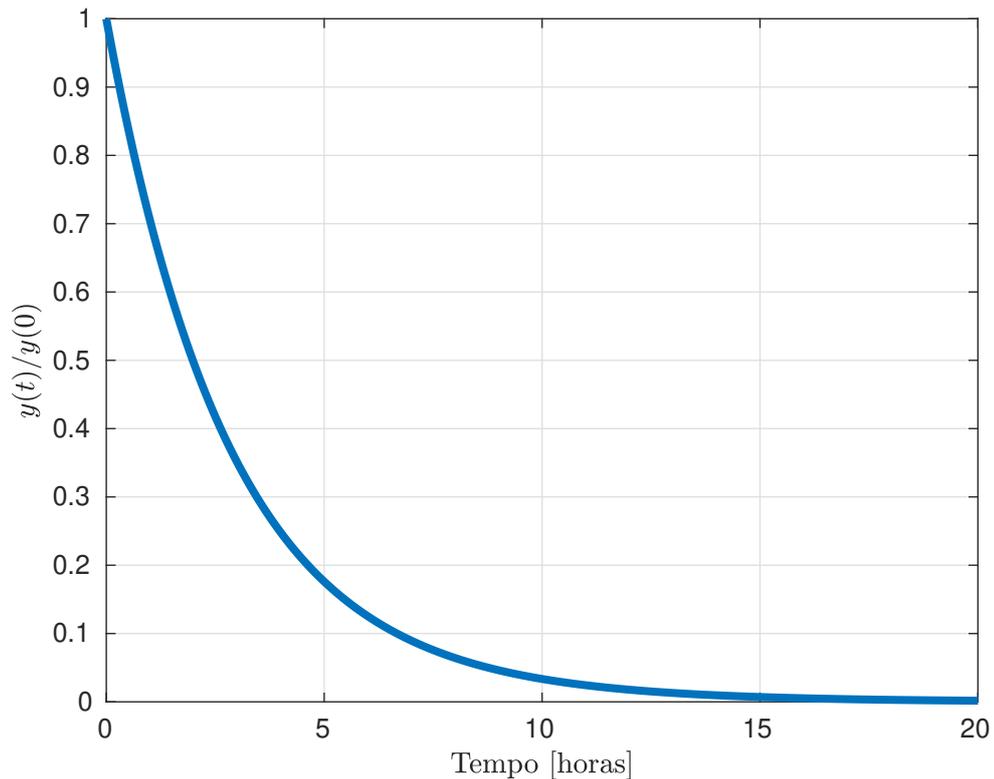


Figura 6: População *Giardia lamblia* normalizada com administração de fármaco.

Na figura 7 é apresentado o sinal de entrada de controle $u(t)$ com dosagem fixa em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).

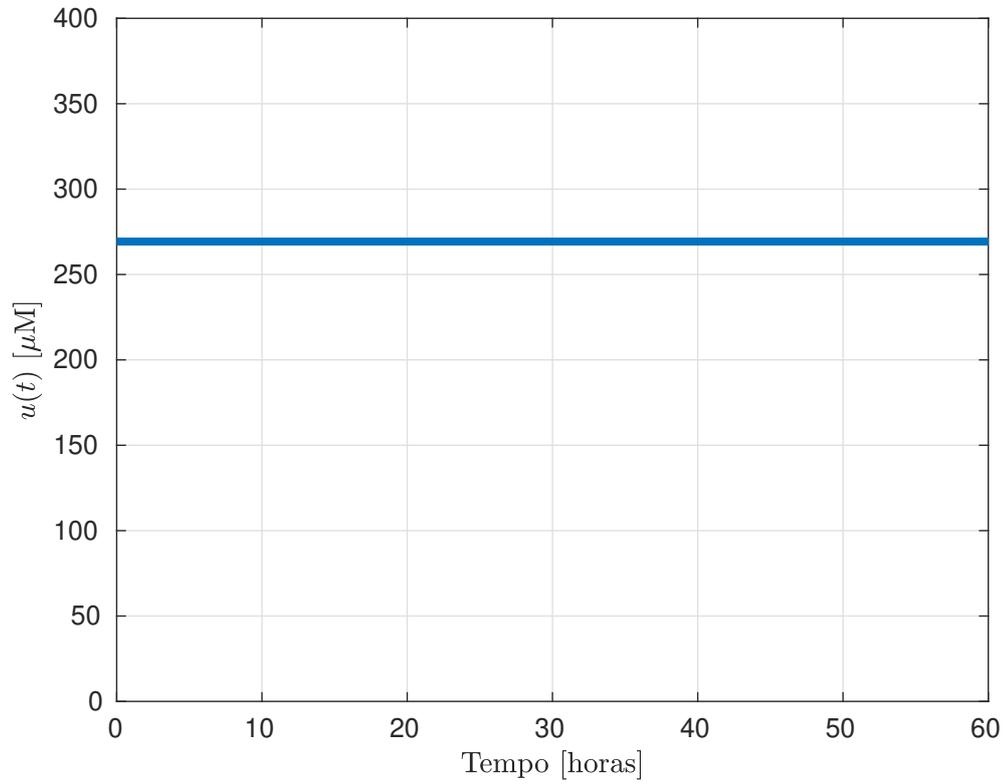


Figura 7: Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).

5.3 Comportamento da População na Presença de Doses Variáveis de Metronidazol

Na Figura 8 é ilustrado que, nesta situação de doses variáveis no tempo, 10 horas após o início do tratamento, a população do protozoário já é inferior a 10% do seu valor inicial.

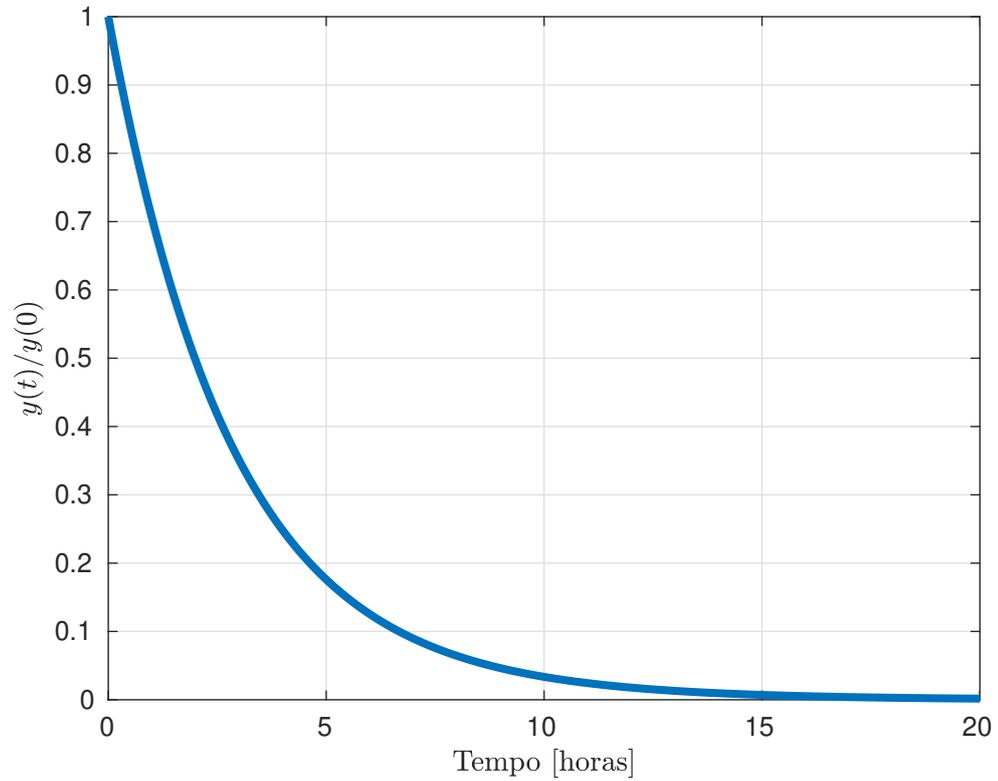


Figura 8: População *Giardia lamblia* normalizada com administração de fármaco.

Na Figura 9 é apresentado o sinal de entrada de controle $u(t)$ com dosagem variável utilizando a lei de controle (4.1).

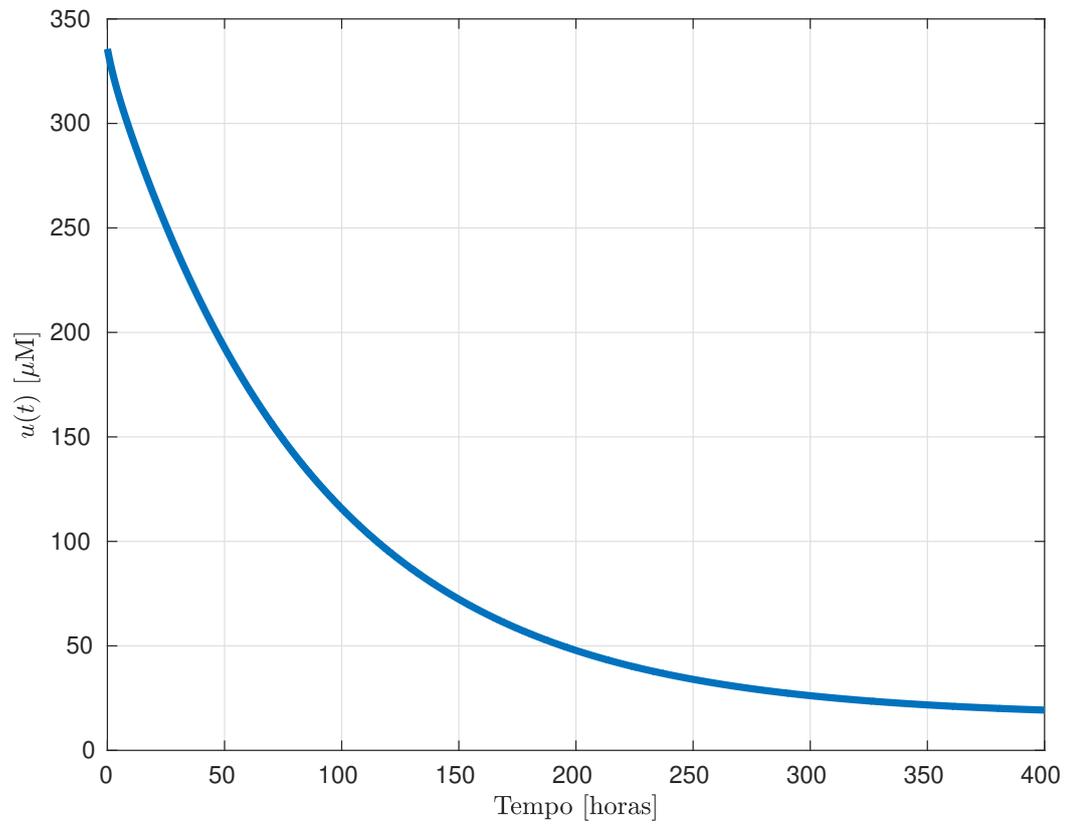


Figura 9: Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu g/ml \approx 5,8425\mu M$).

Na Figura 10 os resultados da simulação são apresentados para a população de *Giardia lamblia* não-normalizada.

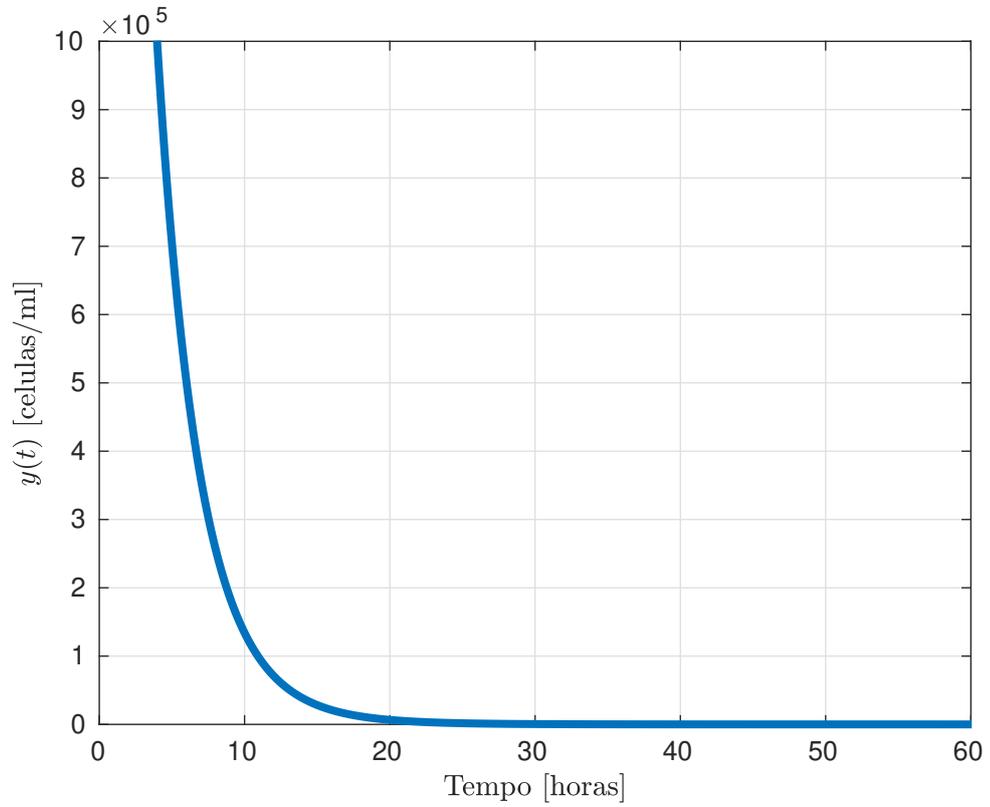


Figura 10: População *Giardia lamblia* não-normalizada.

Na Figura 11 é apresentado o comportamento do observador de norma *versus* a variável de estado não medida $x_2(t)$.

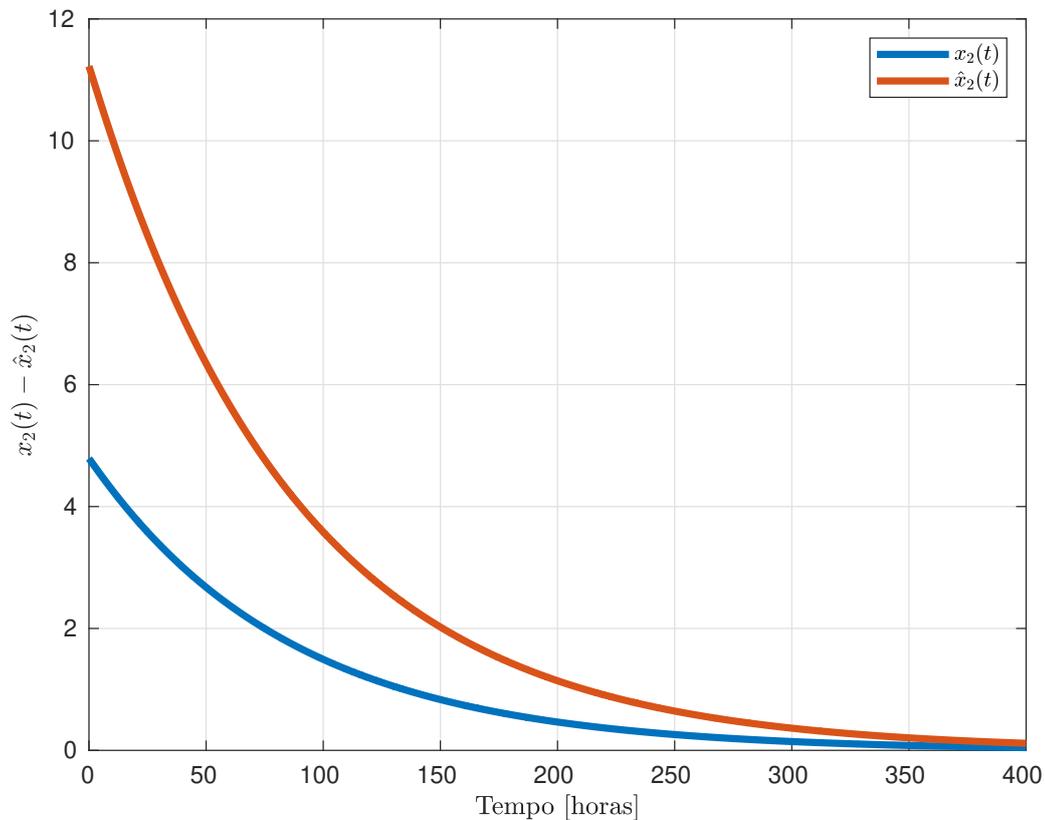


Figura 11: Observador de norma *versus* a variável não-medida.

5.4 Experimento com Cultivo Axênico de Trofozoítos de *Giardia lamblia* e Exposição ao Metronidazol

Foi realizado o cultivo de trofozoítos de *G. lamblia* da cepa WB ATCC50803 em meio TYI-S-33 [15] com pH 7, suplementado com 10% de soro bovino inativado, em tubos de centrífuga com capacidade de 15 ml. Durante a fase estacionária de crescimento do parasita (10^7 células/ml), foram realizadas passagens de trofozoítos para manutenção das células.

Os tubos contendo os parasitas foram centrifugados a 840 g por 5 minutos a $250^\circ C$, os flutuantes foram descartados e 10 ml de meio de cultura foi adicionado. Para inibir a absorção dos parasitas, os tubos foram incubados em gelo por 20 minutos e agitados com o auxílio de um vortex. Um total de $50\mu l$ de cultura original foi adicionada em três tubos de centrífuga contendo novo meio de cultura com 10% de soro fetal bovino com volume de 10ml. Após a elevação, os tubos foram incubados em um forno a $37^\circ C$.



Figura 12: Trofozoíto de *G.lamblia* visto Microscópio Eletrônico.

Após este cultivo, mais quatro experimentos foram realizados simultaneamente. Uma concentração de 10^6 células por ml foi exposta a diferentes concentrações do medicamento metronidazol até completar 60 horas. A cada período de 24h, as células foram contadas em uma câmara de Neubauer e o número de células em cada experimento foi estimado. No momento da contagem, e, respeitando as condições ideais para o cultivo de trofozoítos (meio de cultura e soro fetal bovino), uma nova exposição ao medicamento foi realizada.

As concentrações de drogas utilizadas em cada experimento e nos seus respectivos tempos de análise são apresentadas na Tabela 6 abaixo:

	0h	24h	48h
Experimento 1	320 μM	240 μM	180 μM
Experimento 2	320 μM	240 μM	160 μM
Experimento 3	320 μM	160 μM	80 μM
Experimento 4	320 μM	80 μM	40 μM

Tabela 6: Concentração de metronidazol para exposição de *Giardia lamblia*.

Na figuras 13 e 14 são apresentados os resultados experimentais de concentrações da população $y(t)$. E na figura 15 o sinal de controle $u(t)$.

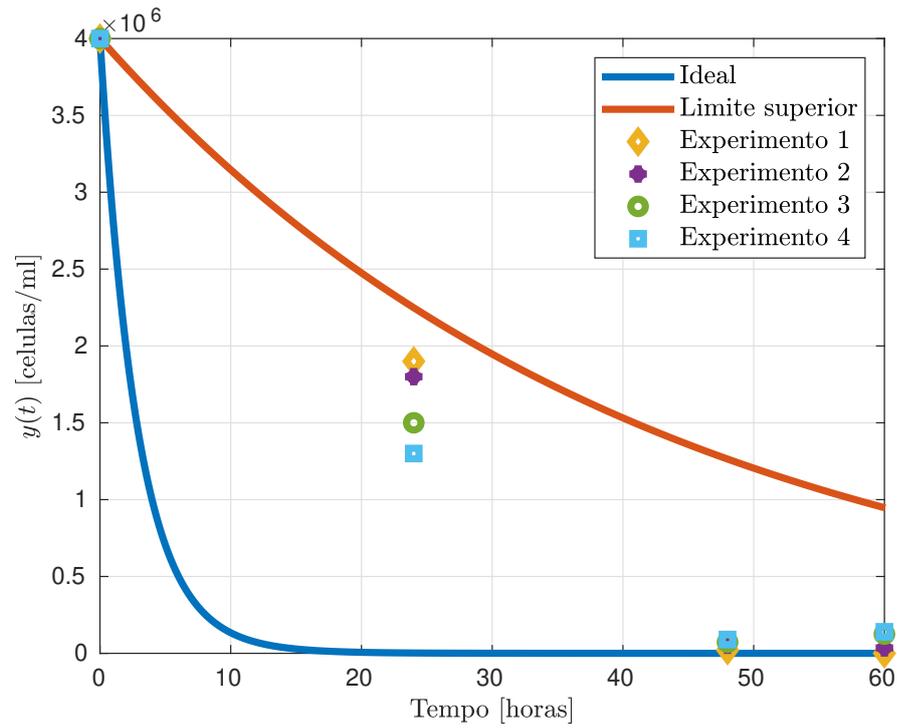


Figura 13: Controle de população *Giardia lamblia*.

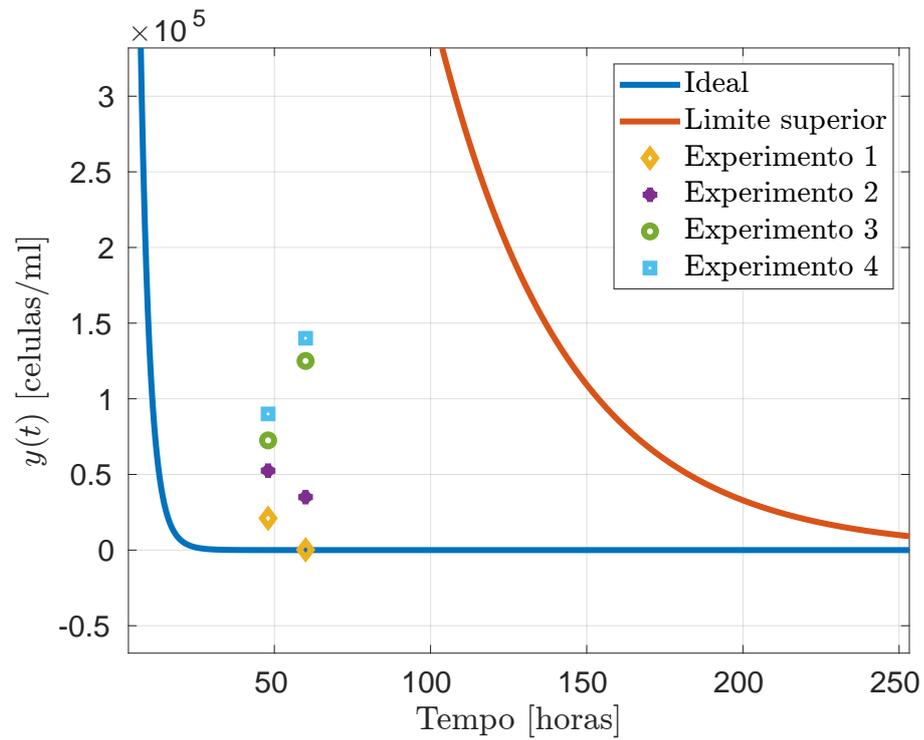


Figura 14: Controle de população *Giardia lamblia* com aproximação.

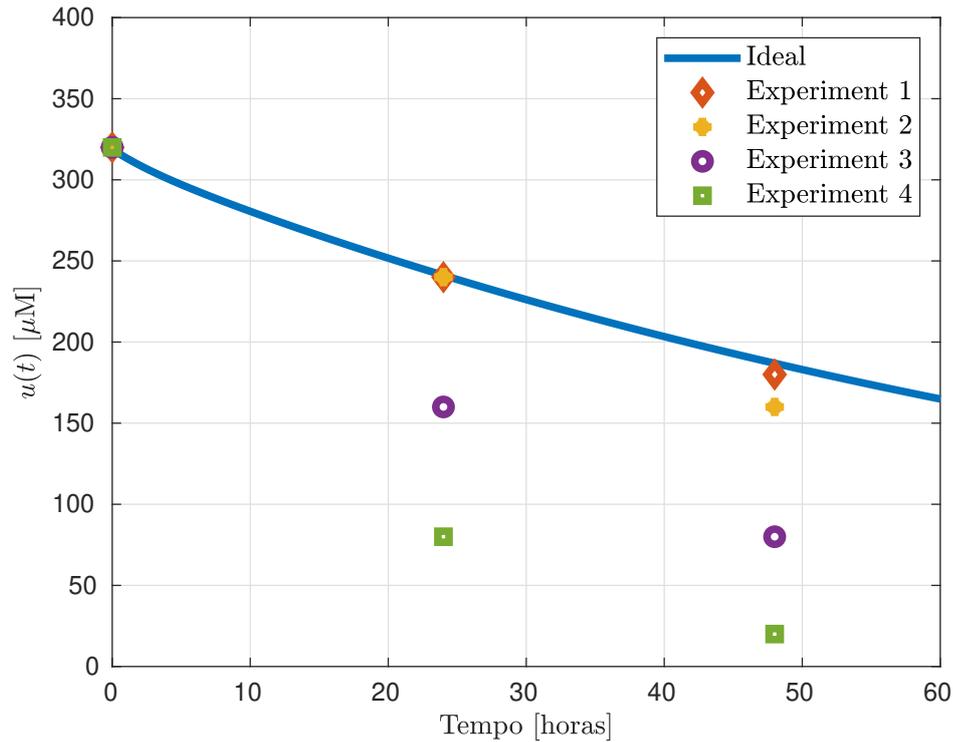


Figura 15: Sinal de Entrada: dosagem de drogas em micro molar ($1\mu\text{g}/\text{ml} \approx 5,8425\mu\text{M}$).

5.5 Discussão

A giardíase é uma doença infecto-parasitária que tem incidência de aproximadamente 280 milhões de casos a cada ano (LANE; LLOYD, 2002; LALLE, 2010). O tratamento de escolha para o tratamento da giardíase consiste do uso de drogas 5-nitroimidazol, principalmente metronidazol (GARDNER; HILL, 2001). O tratamento da doença com metronidazol é geralmente eficaz a 90% (TEJMAN-YARDEN; ECKMANN, 2011), no entanto, o aumento dos casos de persistência parasitária após o tratamento foram relatados em países desenvolvidos e em desenvolvimento (NABARRO et al., 2015; FANTINATTI et al., 2020). Os casos refratários observados podem ser resultado de reinfeção, resistência parasitária ou até mesmo de dosagem inadequada de medicação.

Deve-se notar que, embora a metodologia de contagem de células no Neubauer tenha suas limitações, a escala de concentração observada ainda é muito alta.

Neste experimento, doses de exposição extremamente altas foram utilizadas quando comparado com as doses utilizadas no tratamento clínico. Dentro desses experimentos, uma dose inicial mais alta ($320\mu\text{M}$) foi utilizada e em 24 horas a dose foi reduzida (embora ainda considerada alta). A lógica da metodologia prévia informa que: uma maior dose inicial na cultura seguida de uma redução nas doses seguintes, poderiam eliminar

exponencialmente a presença dos trofozoítos.

Para simular o que ocorre naturalmente no intestino do ser humano, ao longo do experimento, os trofozoítos não foram privados de nutrientes de modo estratégico, com isso foi possível excluir a possibilidade de mortes parasitárias devido à falta de condições ideais, e, assim, analisamos o efeito exclusivo da droga.

A estabilização da *G. lamblia* ocorre de forma exponencial e uma redução significativa nos trofozoítos foi observada quando exposta a altas concentrações de metronidazol. Em outros estudos (LOPES-OLIVEIRA; FANTINATTI; DA-CRUZ, 2020), no final do tempo de análise (60h) ainda foi observado um número elevado de células.

Os achados deste estudo apontam para dados alarmantes, uma vez que doses muito altas de metronidazol podem ser ineficientes para eliminar completamente o parasita em intervalo de 60h. Com isso, os protozoários remanescentes se reproduzirão por divisão binária levando a recolonização do intestino delgado. Este fato é preocupante, visto que o contato prolongado do parasita com o hospedeiro pode levar a um quadro de giardíase crônica.

6 CONCLUSÃO

O controle populacional da *G. lambila* apresentado nesta dissertação foi inspirado no estudo de (LI; LENAGHAN; ZHANG, 2013). Contudo, a lei de controle empregada no trabalho citado assumia que todos os parâmetros e variáveis de estado eram perfeitamente conhecidos.

Neste trabalho, diferente do que foi feito por (LI; LENAGHAN; ZHANG, 2013), o problema de controle populacional de *G. lamblia* foi abordado considerando que os parâmetros da planta são incertos e apenas a variável de saída estava disponível para realimentação. Este problema de não-medição do vetor de estado foi contornado com a utilização de um observador de norma, que é uma ferramenta importante no processo de obtenção de um limitante superior para norma de uma variável indisponível.

Através deste estimador foi possível encontrar um majorante para o valor absoluto da variável que representa a mutação do protozoário. Assim, com auxílio dos limitantes paramétricos conhecidos foi possível projetar uma estratégia de controle cujo a estabilidade foi rigorosamente demonstrada através de Teoremas e suas respectivas Provas.

Por fim, apresenta-se os resultados de simulações para ilustrar o comportamento do sistema em malha fechada, assim como os experimentos realizados em laboratório com cultivo de trofozoítos em cultura. Futuramente ensaios adicionais serão realizados com intuito de validar experimentalmente as leis de controle em tempo real.

Trabalhos Futuros

O mundo vivenciou e vivencia a pandemia provocada pela COVID-19 desde 2019, e neste contexto, a engenharia de controle pode contribuir e muito com novos estudos para o controle populacional de microrganismos patogênicos que provocam doenças infecto-contagiosas por exemplo. Há de se propor trabalhos futuros nesta área da engenharia de controle tão pouco explorada, como o que foi abordado nesta dissertação. Investir esforços(estudos e pesquisas) para combater essas doenças pode ter como recompensa a perpetuação da espécie humana atual e futura.

Produção Científica

Esta dissertação produziu um artigo científico durante o mestrado que foi submetido ao IFAC 2023 (RODRIGUES et al., 2023).

APÊNDICES

APÊNDICE A

Revisão matemática dos modelos populacionais proposto por Malthus, Verhulst e Loka - Volterra ; os quais impulsionaram novas ideias para o surgimento de outros modelos populacionais.

Crescimento Exponencial

Seja $y = \phi(t)$ a população de uma determinada espécie no instante t . A hipótese mais simples em relação à variação de população é que a derivada temporal de y é proporcional ao valor atual de y (BOYCE; DIPRIMA, 1985); ou seja:

$$\frac{dy}{dt} = ry. \quad (6.1)$$

onde r é a taxa de crescimento ou decrescimento populacional. Para $r > 0$ têm-se que a população está crescendo e se $r < 0$ a população está decrescendo. Como a Equação (6.1) é uma equação diferencial separável, com isso obtém-se:

$$\begin{aligned} \int \frac{dy}{y} &= \int r dt, \\ \ln|y| &= rt + C, \\ |y| &= e^{rt+c} = e^{rt}e^c, \\ y &= y_0e^{rt}, \end{aligned} \quad (6.2)$$

em que y_0 é uma constante arbitrária. Para interpretar y_0 , observe que a Equação (6.2) resulta em:

$$y(0) = y_0e^{r0} = y_0.$$

Portanto, y_0 é o valor inicial da função. O que torna aqui a solução do problema de valor inicial, como sendo:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dt} &= ry, \\ y(0) &= y_0, \\ y(t) &= y_0 e^{rt}.\end{aligned}\tag{6.3}$$

A Equação (6.3) é razoavelmente adequada para muitas populações, pelo menos por períodos limitados de tempo. Entretanto, é claro que tais condições ideais não podem continuar indefinidamente pois em algum momento, as limitações de espaço, suprimento de comida ou de outros recursos, reduzirá a taxa de crescimento e com isso terminará o crescimento exponencial ilimitado (BOYCE; DIPRIMA, 1985).

Na Figura 16 é ilustrado o crescimento exponencial, proposto pelo modelo Malthusiano para várias populações segundo Alves (2002).

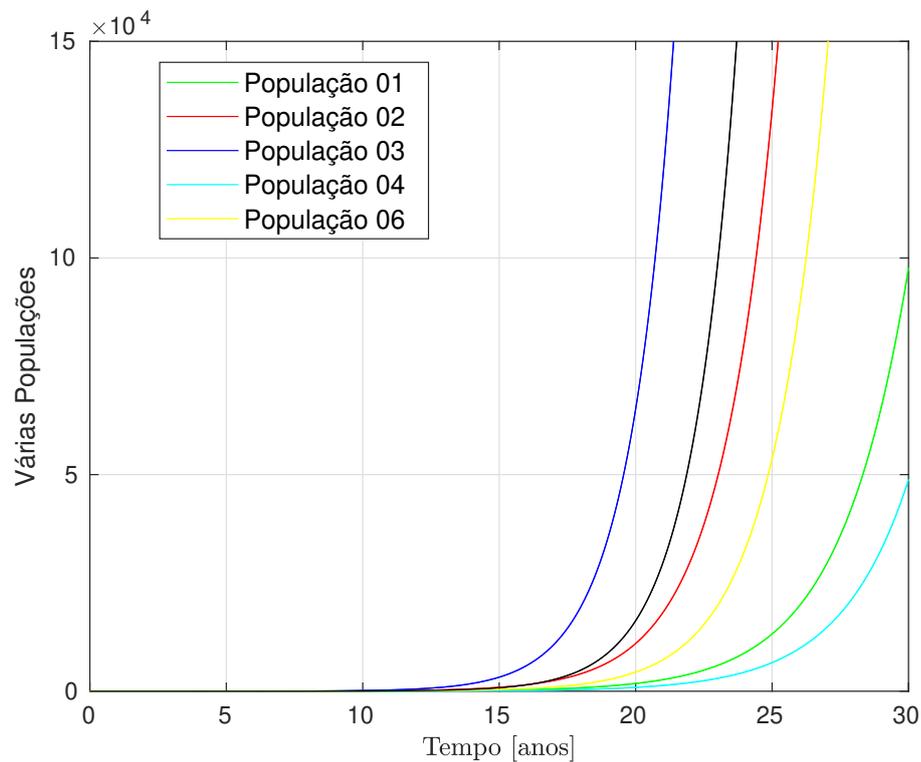


Figura 16: Crescimento Exponencial: y em Função de t para $dy/dt = ry$.

Crescimento Logístico

O matemático belga Pierre François Verhulst fez adaptações no modelo de Malthus, criando um modelo em que a taxa de crescimento depende diretamente dos recursos disponíveis, este modelo foi chamado logístico e sua solução é denominada de função logística sendo sua representação gráfica conhecida como curva logística (SOUZA; FILHO, 2020).

Para levar em consideração o fato de que a taxa de crescimento da população depende, de fato, da população, substituímos a constante r na Equação (6.1) por uma função $h(y)$ e obtivemos, então, a equação modificada (BOYCE; DIPRIMA, 1985):

$$\frac{dy}{dt} = h(y)y. \quad (6.4)$$

Devemos escolher $h(y)$ com as seguintes propriedades:

- $h(y) \cong r > 0$, quando y é pequeno
- $h(y) < 0$, quando y é suficientemente grande
- $h(y)$ diminui quando y aumenta

A função mais simples que atende as propriedades acima é:

$$h(y) = r - ay. \quad (6.5)$$

Substituindo (6.5) em (6.4) fica:

$$\frac{dy}{dt} = r \left(1 - \frac{y}{K}\right) y, \quad (6.6)$$

onde $k = \frac{r}{a}$, sendo a uma constante positiva e k o nível de saturação ou capacidade de sustentação ambiental.

Resolvendo a Equação (6.6) para saber o número de elementos da população em

um determinado instante, temos:

$$\begin{aligned}\frac{dy}{dt} &= r \left(1 - \frac{y}{k}\right) y, \\ \frac{dy}{\left(1 - \frac{y}{k}\right) y} &= r dt.\end{aligned}$$

Usando expansão em frações parciais a esquerda do sinal de igualdade, obtém-se:

$$\left(\frac{1}{y} + \frac{\frac{1}{k}}{1 - \frac{y}{k}}\right) dy = r dt.$$

Integrando ambos os lados da equação acima:

$$\int \left(\frac{1}{y} + \frac{\frac{1}{k}}{1 - \frac{y}{k}}\right) dy = \int r dt.$$

Assim sendo, obtém-se:

$$\ln|y| - \ln\left|1 - \frac{y}{k}\right| = rt + C. \quad (6.7)$$

onde C é uma constante arbitraria de integração a ser determinada pela condição inicial $y(0) = y_0$. Observa-se que, se $0 < y_0 < k$, então y permanece nesse intervalo para todo o tempo. Então, nesse caso podemos remover as barras de módulo da Equação (6.7) e calcular a exponencial de todos os termos desta equação (BOYCE; DIPRIMA, 1985), vemos que:

$$\frac{y}{1 - \left(\frac{y}{k}\right)} = Ce^{rt}, \quad (6.8)$$

sendo $C = e^c$. Para que a condição inicial $y(0) = y_0$ seja satisfeita, precisamos escolher:

$$C = \frac{y_0}{1 - \left(\frac{y_0}{k}\right)}. \quad (6.9)$$

Usando C na Equação (6.9) e resolvendo para y , obtém-se:

$$y = \frac{y_0 K}{y_0 + (k - y_0) e^{-rt}}. \quad (6.10)$$

Assim, a solução (6.10) sob a hipótese de que $0 < y < k$. Se $y_0 > k$. Finalmente, note que esta Equação também contém as soluções de equilíbrio $y = \phi_1(t) = 0$ e $y = \phi_2(t) = k$ correspondendo às condições iniciais $y_0 = 0$ e $y_0 = k$, respectivamente segundo (BOYCE; DIPRIMA, 1985).

A Figura 17 apresenta o crescimento logístico para muitas populações com condições iniciais diferentes. Todas elas tendem para a capacidade de suporte de carga k .

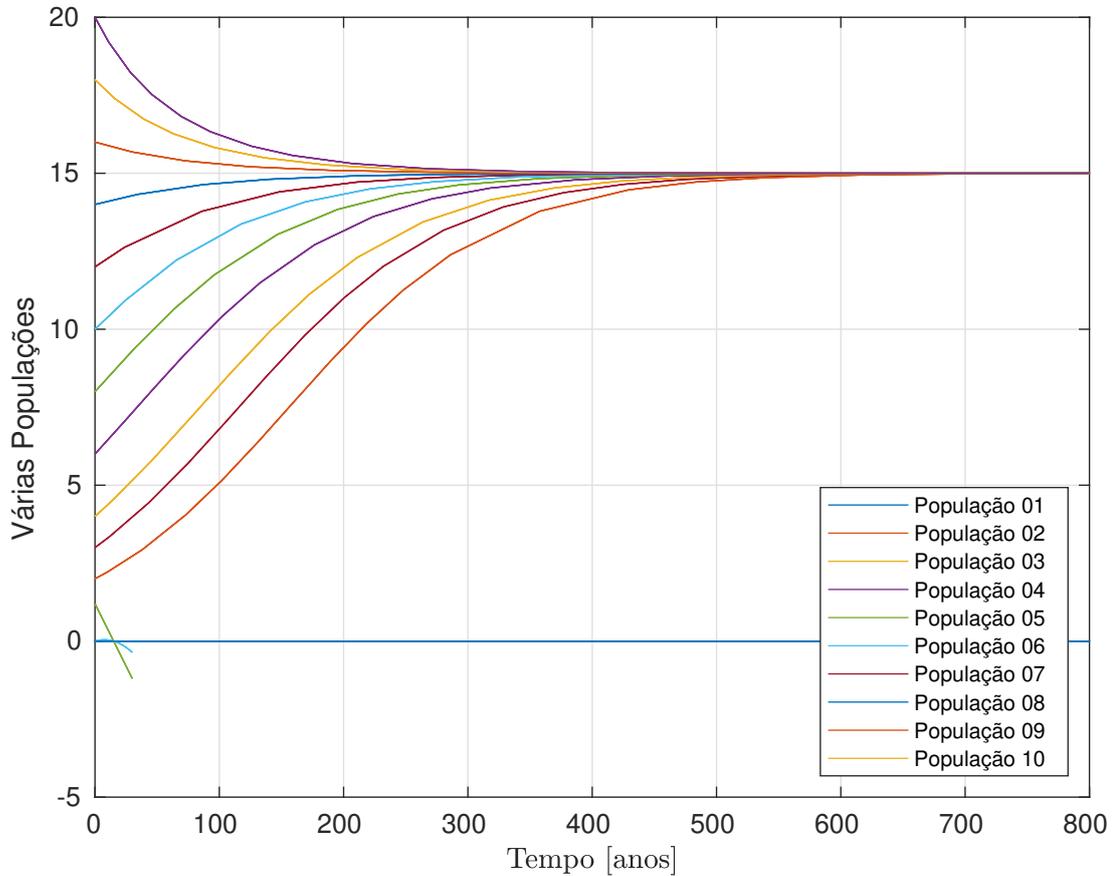


Figura 17: Crescimento Logístico para Muitas Populações.

Assim, para cada $y_0 > 0$ a solução tende à solução de equilíbrio $y = \phi_2(t) = k$ assintoticamente quando $t \rightarrow \infty$. Portanto, a solução constante $\phi_2(t) = k$ é dita uma solução **assintoticamente estável** da Equação (6.6), ou o ponto $y = k$ é dito um ponto de equilíbrio, ou ponto crítico, assintoticamente estável. Depois de muito tempo a população está próxima de seu nível de saturação k , independentemente do tamanho inicial da população (veja figura 16), desde que seja positivo. Outras soluções tendem à solução de equilíbrio mais rapidamente quando r aumenta de acordo com (BOYCE; DIPRIMA, 1985).

Por outro lado, a situação para a solução de equilíbrio $y = \phi_1(t) = 0$ é bem diferente. Mesmo soluções que começam muito próximas de zero crescem quanto t aumenta e, como vimos, tendem a k quando $t \rightarrow \infty$. Dizemos que $\phi_1(t) = 0$ é uma **solução de equilíbrio instável** ou que $y = 0$ é um ponto de equilíbrio, ou ponto crítico, instável.

Isso significa que a única maneira de garantir que a solução permaneça próxima de zero é fazer com que seu valor inicial seja exatamente igual a zero.

O Modelo de Lotka - Volterra

Alfred James Lotka (1880-1949), em 1925, e Vito Volterra (1860-1940), em 1926, desenvolveram equações que são utilizadas para interpretação matemática das relações entre duas espécies, onde uma das espécies se alimenta da outra espécie. Em termos ecológicos, essa interação é do tipo predador-presa ou hospedeiro-parasitoide. No segundo tipo, o parasitoide é a espécie que vive em contato próximo ou no interior da outra espécie, hospedeiro, com a finalidade de extrair do hospedeiro os nutrientes necessários para a sua sobrevivência e conseqüentemente levando muitas vezes o hospedeiro à morte.

O parasiticismo é similar ao parasitismo exceto que o hospedeiro é morto, muitas vezes antes de estar apto à reprodução, enquanto que no parasitismo os danos provocados no hospedeiro não o impede de reproduzir e pode levar a uma existência desarmônica onde o parasita se beneficia da relação segundo Santos et al. (2012). O modelo logístico presa e predador proposto por Lotka - Volterra é apresentado a seguir:

$$\frac{dx}{dy} = x(a - \mu y), \quad (6.11)$$

$$\frac{dy}{dt} = y(-b - \xi x). \quad (6.12)$$

Tais equações foram construídas a partir das seguintes hipóteses:

1. $\frac{dx}{dt} = ax$, com $a > 0$ quando $y = 0$.
2. $\frac{dx}{dt} = -by$, com $b > 0$ quando $x = 0$.
3. Os termos μxy e $-\xi yx$, com $\mu > 0$ e $\xi > 0$, representam as interações entre as duas espécies. O termo μxy aumenta $\frac{dy}{dt}$, enquanto o termo $-\xi yx$ diminui o termo $\frac{dx}{dt}$.

No item 1, a falta de predadores/parasitoides faz com que a população de presas/hospedeiros aumente proporcionalmente à atual população; “a” representa a taxa de crescimento de presas/hospedeiro.

No item 2, a falta de presas hospedeiros faz com que a população de predadores parasitoides seja extinta; “b” a taxa de mortalidade dos predadores.

No item 3, cada interação entre as duas espécies favorece o crescimento da população de predadores/parasitoides e impede o crescimento da população de presas hospedeiros; μ e ξ são as constantes que medem as interações entre as espécies de acordo com Santos et al. (2012).

A Figura 18 ilustra o modelo de presa-predador proposto por Lotka - Volterra:

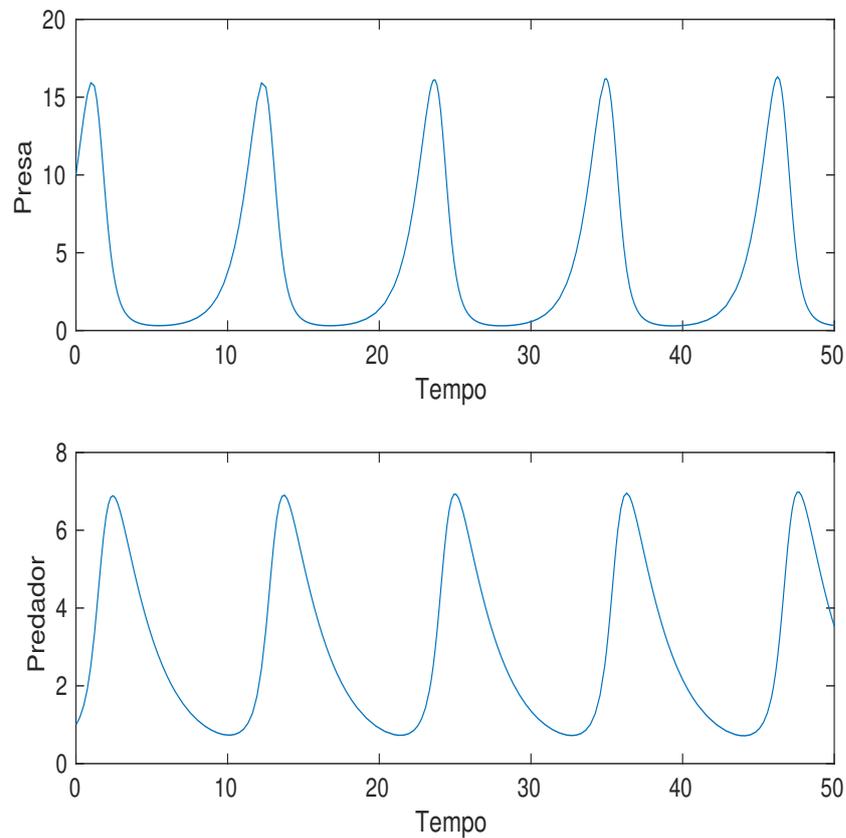


Figura 18: Modelo Logístico Presa Predador por Lotka - Volterra.

REFERÊNCIAS

- ALVES, J. E. D. A polêmica malthus versus condorcet reavaliada à luz da transição demográfica. *Rio de Janeiro: Escola Nacional de Ciências Estatísticas*, 2002.
- ANGELINI, R. Ecossistemas e modelagem ecológica. *Perspectivas da Limnologia no Brasil*, v. 1, p. 1–19, 1999.
- BALDURSSON, S.; KARANIS, P. Waterborne transmission of protozoan parasites: review of worldwide outbreaks—an update 2004–2010. *Water research*, Elsevier, v. 45, n. 20, p. 6603–6614, 2011.
- BÄR, R. S. d. R. Estudo do modelo presa-predador. 2021.
- BELTRÃO, M. E. P. et al. Ensino de cálculo pela modelagem matemática e aplicações: teoria e prática. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, 2009.
- BERKMAN, D. S. et al. Effects of stunting, diarrhoeal disease, and parasitic infection during infancy on cognition in late childhood: a follow-up study. *The Lancet*, Elsevier, v. 359, n. 9306, p. 564–571, 2002.
- BOREHAM, P.; PHILLIPS, R.; SHEPHERD, R. Altered uptake of metronidazole in vitro by stocks of giardia intestinalis with different drug sensitivities. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 82, n. 1, p. 104–106, 1988.
- BOYCE, W. E.; DIPRIMA, R. C. *Equações diferenciais elementares e problemas de valores de contorno*. [S.l.]: Guanabara Dois, 1985.
- CARRANZA, P. G.; LUJAN, H. D. New insights regarding the biology of giardia lamblia. *Microbes and infection*, Elsevier, v. 12, n. 1, p. 71–80, 2010.
- CUNHA, J. P. V. S.; COSTA, R. R.; HSU, L. Design of first-order approximation filters for sliding-mode control of uncertain systems. *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, v. 55, n. 11, p. 4037–4046, 2008.
- EDLIND, T. D.; HANG, T. L.; CHAKRABORTY, P. R. Activity of the anthelmintic benzimidazoles against giardia lamblia in vitro. *Journal of infectious diseases*, The University of Chicago Press, v. 162, n. 6, p. 1408–1411, 1990.
- ENCARNAÇÃO, S. et al. Teoria de jogos evolutiva e cooperação. In: ASSOCIACAO PORTUGUESA PARA O DESENVOLVIMENTO REGIONAL (APDR). *26th APDR Congress. Evidence-based territorial policymaking: Formulation, implementation and evaluation of policy*. [S.l.], 2019. p. 31–34.
- ESCOBEDO, A. A.; CIMERMAN, S. Giardiasis: a pharmacotherapy review. *Expert opinion on pharmacotherapy*, Taylor & Francis, v. 8, n. 12, p. 1885–1902, 2007.
- FANTINATTI, M. et al. Recirculation of giardia lamblia assemblage a after metronidazole treatment in an area with assemblages a, b, and e sympatric circulation. *Frontiers in microbiology*, Frontiers, p. 2339, 2020.

- FARTHING, M. J. Giardiasis. *Gastroenterology Clinics*, Elsevier, v. 25, n. 3, p. 493–515, 1996.
- FENG, Y.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of giardia species and giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, Am Soc Microbiol, v. 24, n. 1, p. 110–140, 2011.
- FRANCO, R.; CORDEIRO, N. Giardiasis and cryptosporidiosis in day-care centers in the municipality campinas sp [giardiose e criptosporidiose em creches no município de campinas, sp.]. 1996.
- GARDNER, T. B.; HILL, D. R. Treatment of giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, Am Soc Microbiol, v. 14, n. 1, p. 114–128, 2001.
- GUIMARÃES, S.; SOGAYAR, M. I. L. Detection of anti-giardia lamblia serum antibody among children of day care centers. *Revista de saude publica*, SciELO Brasil, v. 36, n. 1, p. 63–68, 2002.
- HILL, D. Giardiasis: Issues in management and treatment. *Infect Dis Clin North Am*, v. 7, p. 503–525, 1993.
- HUANG, D. B.; WHITE, A. C. An updated review on cryptosporidium and giardia. *Gastroenterology Clinics*, Elsevier, v. 35, n. 2, p. 291–314, 2006.
- JUNIOR, O. A. d. L.; KAISER, J.; CATISTI, R. High occurrence of giardiasis in children living on a landless farm workers' settlement in araras, são paulo, brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, SciELO Brasil, v. 55, p. 185–188, 2013.
- KHALIL, H. K. *Nonlinear Systems 3rd ed.* Englewood Cliffs, NJ, USA:: Prentice Hall, 2002.
- LALLE, M. Giardiasis in the post genomic era: treatment, drug resistance and novel therapeutic perspectives. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, Bentham Science Publishers, v. 10, n. 4, p. 283–294, 2010.
- LANE, S.; LLOYD, D. Current trends in research into the waterborne parasite giardia. *Critical reviews in microbiology*, Taylor & Francis, v. 28, n. 2, p. 123–147, 2002.
- LEMÉE, V. et al. Metronidazole and albendazole susceptibility of 11 clinical isolates of giardia duodenalis from france. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Oxford University Press, v. 46, n. 5, p. 819–821, 2000.
- LI, X.; LENAGHAN, S.; ZHANG, M. Evolutionary game based control for biological systems with applications in drug delivery. *Journal of theoretical biology*, Elsevier, v. 326, p. 58–69, 2013.
- LOPES-OLIVEIRA, L. A. P.; FANTINATTI, M.; DA-CRUZ, A. M. In vitro-induction of metronidazole-resistant giardia duodenalis is not associated with nucleotide alterations in the genes involved in pro-drug activation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, SciELO Brasil, v. 115, 2020.
- MOONEY, D. D.; SWIFT, R. J. *A course in mathematical modeling*. [S.l.]: American Mathematical Society, 2021. v. 13.

- NABARRO, L. et al. Increased incidence of nitroimidazole-refractory giardiasis at the hospital for tropical diseases, london: 2008–2013. *Clinical Microbiology and Infection*, Elsevier, v. 21, n. 8, p. 791–796, 2015.
- NASH, T. E. et al. Treatment of patients with refractory giardiasis. *Clinical infectious diseases*, The University of Chicago Press, v. 33, n. 1, p. 22–28, 2001.
- NUNES et al. *Epidemiologia espacial e molecular de Giardia intestinalis nas profundezas da Amazônia, Brasil*. 2016. 5 p.
- ORGANIZATION, W. H. et al. *Planning for the Global Elimination of Trachoma (GET): report of a WHO Consultation, Geneva, Switzerland, 25 and 26 November 1996*. [S.l.], 1997.
- ORLANDINI, M. R.; MATSUMOTO, L. S. Prevalência de parasitoses intestinais em escolares. *Universidade Estadual do Norte do Paraná*, p. 1655–8, 2010.
- PATA, R. B. et al. Modelo de lotka-volterra para a dinâmica predador-presa. Universidade Federal do Pampa, 2017.
- PINHEIRO, P. L. Enteroparasitoses na infância, seus determinantes sociais e principais consequências: uma revisão bibliográfica. 2011.
- RAFIKOV, M. Notas do minicurso: aplicação dos modelos matemáticos no controle de populações. *Minicurso da Escola de Verao*, 2003.
- RODRIGUES et al. *Population Control of Giardia lamblia*. [S.l.]: Congress of the International Federation of Automatic Control 2023, 2023. 6 p.
- SANTOS, L. H. S. d. et al. Teoria de controle ótimo com aplicações a sistemas biológicos. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 2012.
- SARTINI, B. A. et al. Uma introdução à teoria dos jogos. *Anais da II Bienal da Sociedade Brasileira de Matemática*, UFBA Salvador, p. 25–29, 2004.
- SEMPERTEGUI, F. et al. Risk of diarrheal disease in ecuadorian day-care centers. *The Pediatric infectious disease journal*, v. 14, n. 7, p. 606–612, 1995.
- SILVA, M. F. F. d. et al. *Caracterização de genótipos de giardia lamblia e ferramentas de educação em saúde como estratégias de prevenção da giardiase*. Tese (Doutorado), 2017.
- SOUZA, F. B. de; FILHO, A. C. da S. Equações diferenciais e o crescimento populacional: uma comparação entre a curva de gompertz e o modelo logístico. *Revista Eletrônica do Curso de Licenciatura em Matemática*, v. 1, n. 1, 2020.
- TB, G.; DR, H. Treatment of giardiasis. *Clin Microbiol Rev*, v. 14, p. 114–128, 2001.
- TEJMAN-YARDEN, N.; ECKMANN, L. New approaches to the treatment of giardiasis. *Current opinion in infectious diseases*, LWW, v. 24, n. 5, p. 451–456, 2011.
- THOMPSON, R.; REYNOLDSON, J.; MENDIS, A. Giardia and giardiasis. *Advances in parasitology*, Elsevier, v. 32, p. 71–160, 1993.

TORGERSON, P. R. et al. World health organization estimates of the global and regional disease burden of 11 foodborne parasitic diseases, 2010: a data synthesis. *PLoS medicine*, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 12, n. 12, p. e1001920, 2015.

UPCROFT, J.; UPCROFT, P.; BOREHAM, P. Drug resistance in giardia intestinalis. *International journal for parasitology*, Elsevier, v. 20, n. 4, p. 489–496, 1990.

UPCROFT, P. Drug resistance in giardia: clinical versus laboratory isolates. *Drug Resistance Updates*, Elsevier, v. 1, n. 3, p. 166–168, 1998.

VINCENT, T. L.; BROWN, J. S. *Evolutionary game theory, natural selection, and Darwinian dynamics*. [S.l.]: Cambridge University Press, 2005.

WRIGHT, S. G. Protozoan infections of the gastrointestinal tract. *Infectious Disease Clinics*, Elsevier, v. 26, n. 2, p. 323–339, 2012.

ZAAT, J.; MANK, T. G.; ASSENDELFT, W. A systematic review on the treatment of giardiasis. *Tropical Medicine & International Health*, Wiley Online Library, v. 2, n. 1, p. 63–82, 1997.