

Padronização do Ensaio para Triagem de Fármacos Esquistossomicidas na forma juvenil de *Schistosoma mansoni*

João M. Rezende-Neto¹ (PG), Walter C. G. Valente¹ (PG), Thalia S. da Cruz¹ (IC), Giuliana V. Schirato¹ (PQ), Rafael F. Dantas¹ (PQ), Floriano P. Silva-Júnior^{1*} (PQ).

¹Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Oswaldo Cruz – RJ.

*floriano@ioc.fiocruz.br

Palavras Chave: triagem, esquistossomose, padronização.

Introdução

Esquistossomose é uma infecção helmíntica causada pelos vermes trematódeos do gênero *Schistosoma*. Esta doença teve infecção registrada em 78 países. Estima-se que cerca de 220 milhões de pessoas demandaram quimioterapia preventiva para esta doença em 2017¹. Estes parasitos em estágio juvenil possuem baixa susceptibilidade ao tratamento de primeira escolha com praziquantel (PZQ), sendo assim, possuem relevância na descoberta de novos candidatos a compostos esquistossomicidas. Este trabalho buscou padronizar a metodologia de triagem de candidatos a fármacos sobre vermes juvenis de *S. mansoni*. Adotou-se o ensaio de viabilidade celular por XTT, previamente validado para esquistossômulos, as formas larvais de *S. mansoni*².

Resultados e Discussão

Inicialmente foram testados os parâmetros de tempo de incubação (24 e 48 horas) e quantidade de vermes (8 a 15 e 15 a 30) por poço. A figura 1 a robustez do sinal obtido após 48 horas de incubação com 15 a 30 vermes por poço.

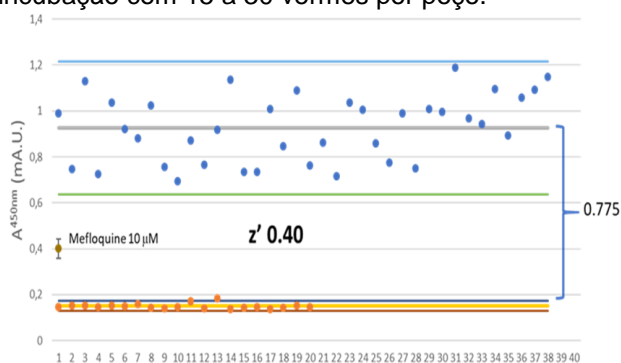


Figura 1. Robustez do Sinal (Z') após 48 horas de incubação do XTT com 15-30 vermes juvenis de *S. mansoni* (pontos azuis e laranjas representam vermes vivos e mortos por aquecimento a 60°C/15 minutos, respectivamente). Além disso, escolheu-se mefloquina a 10 μ M como controle de atividade esquistossomicida.

A repetição do experimento revelou que a média do metabolismo dos vermes vivos variou de 0,6 UAbs a 1,9 UAbs (figura 2).

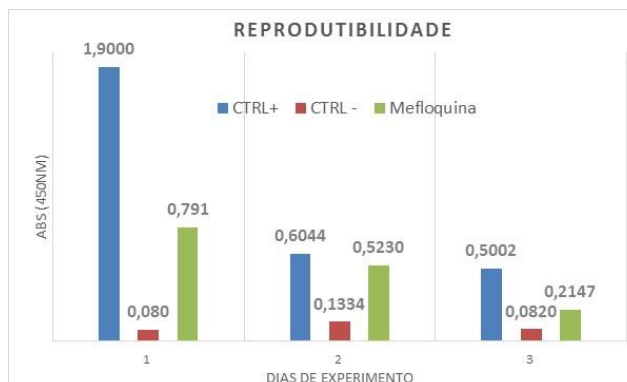


Figura 2: Reprodutibilidade do experimento em 3 dias diferentes, vermes não-tratados em azul (CTRL+), aquecidos a 60°C/15 minutos em vermelho (CTRL-) e 10 μ M de mefloquina em verde.

Tendo em vista a elevada dispersão do quantitativo de vermes por poço (15 a 30), conjugada à variação intrínseca dos vermes obtidos a partir do modelo *in vivo*, acredita-se que tais fatores possam explicar a baixa uniformidade do sinal obtido. Entre os fatores mencionados acima, pouco pode ser feito para reduzir a variação do modelo biológico empregado. Por sua vez, limitações metodológicas na transferência de quantidades uniformes de vermes, apresentam-se como gargalo considerável na metodologia adotada.

Conclusões

A padronização da metodologia revelou Z' satisfatório, entretanto, a comparação entre dias distintos de experimentos mostrou-se um empecilho ainda na metodologia atual. Pretende-se modificar a metodologia, através do aumento de parasitos por poço e/ou redução do tempo de exposição com o XTT para 24 horas por exemplo. Dessa maneira, haveria aumento da extensão da metabolização do sal de tetrazólio, em contraste a redução da influência de interferentes no meio reacional.

Agradecimentos

CNPq, FAPERJ e INCT-INOFAR.

¹ World Health Organization (WHO) - <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>

² AGUIAR, Pedro Henrique Nascimento et al. A high-throughput colorimetric assay for detection of *Schistosoma mansoni* viability based on the tetrazolium salt XTT. *Parasites & vectors*, v. 10, n. 1, p. 300, 2017.