

## Teste de suscetibilidade *in vitro* de drogas antimaláricas contra cepas de *Plasmodium falciparum*: isolado de campo e cepa padrão

Walldelice Holanda SALGADO<sup>1</sup>; Márcia Rúbia Silva MELO<sup>2</sup>; Adrian Martin POHLIT<sup>3</sup>; Pedro Paulo Ribeiro VIEIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC INPA/FAPEAM; <sup>2</sup>Orientador INPA/FMTAM; <sup>3</sup>Colaboradores INPA/CPN;

A malária é a principal causa de perdas econômicas e alta morbidade no mundo e continua sendo endêmica em regiões tropicais como a Amazônia (Andrade-Neto et al. 2007). As principais espécies parasitárias encontradas no país são o *P. vivax* e o *P. falciparum*. Na Amazônia legal, a maior parte dos casos de malária é devida ao *P. vivax*, no entanto, apesar da ocorrência de uma redução geral de casos na região, é preocupante o incremento do percentual de casos de malária por *P. falciparum*, o que favorece a ocorrência de formas graves e óbitos. No período de 1999 a 2005, observa-se aumento de 19,2% para 25% na proporção de malária por *P. falciparum*, representando um incremento de 33,9% (SVS/MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Tendo em vista o alto impacto da malária como problema de saúde pública, é essencial o desenvolvimento de novas estratégias e metodologias de combate à doença. Uma vez que a ação terapêutica de drogas antimaláricas permanece como o principal instrumento de combate e controle da malária em áreas endêmicas, a avaliação da atividade *in vitro* dos medicamentos de primeira e segunda linha de tratamento, assim como a futura descoberta de novas substâncias com propriedades antimaláricas são atividades essenciais no êxito dessas ações de controle (Vieira et al. 2004). O objetivo do estudo foi treinar a técnica do cultivo *in vitro* do *Plasmodium falciparum*; desenvolver ensaios de atividade antimalárica com substâncias de atividade já reconhecida tais como: quinina e cloroquina; testar a suscetibilidade *in vitro* de drogas antimaláricas contra cepas de *P. falciparum* isoladas de paciente malarígeno que chega por demanda passiva à FMTAM e cepa padronizada K1 adquirida do MR4 (Malaria Research and Reference Reagent Resource Center) e verificar a relação existente entre os valores de  $CI_{50}$  (concentração capaz de inibir 50% do crescimento do parasito) encontrados para as duas cepas estudadas. A cepa K1 mantida em cultivo contínuo (Trager e Jensen, 1976) foi sincronizada e utilizada para o microteste numa parasitemia aproximadamente de 1-2%, e hematócrito de 2,5%. A cepa EVS obtida diretamente de paciente (isolado de campo), foi coletada em tubo vacutainer, processada e diluída 20 vezes em meio de cultivo RPMI 1640 suplementado com soro humano a 10%. O teste de suscetibilidade foi desenvolvido segundo protocolo do MIM (Multilateral Initiative on Malaria) em microplacas de 96 poços, com diluições em série dos antimaláricos, cloroquina e quinina, usando a proporção 1:3, num total de 7 concentrações, sendo as concentrações mais altas de 2,5 e 0,5  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. A microplaca foi incubada em baixa tensão de oxigênio a 37°C por 24 horas. Após a incubação, foram feitos esfregaços do conteúdo dos poços da placa preparada para análise microscópica. A inibição do crescimento dos parasitos foi determinada pela comparação com os controles sem droga e o  $CI_{50}$  (concentração capaz de inibir 50% do crescimento do parasito) calculado mediante regressão linear utilizando o software Microcal Origin®. As curvas para as cepas testadas estão abaixo ilustradas (Figuras 1 a 4). Como podemos observar os valores de  $CI_{50}$  para ambas as cepas foram semelhantes de acordo com os antimaláricos utilizados. Os valores de  $CI_{50}$  para cloroquina foram superiores para ambas as cepas. Esse resultado sugere que a cepa EVS tem um perfil de resistência semelhante à cepa K1, que apresenta conhecida resistência a cloroquina. Os dados obtidos estão de acordo com a literatura, visto que a resistência a cloroquina é observada desde a década de 70, conforme Taranto (2006). A quinina teve um valor de  $CI_{50}$  menor já esperado, considerando-se que já é utilizada no tratamento contra malárias por *P. falciparum*.

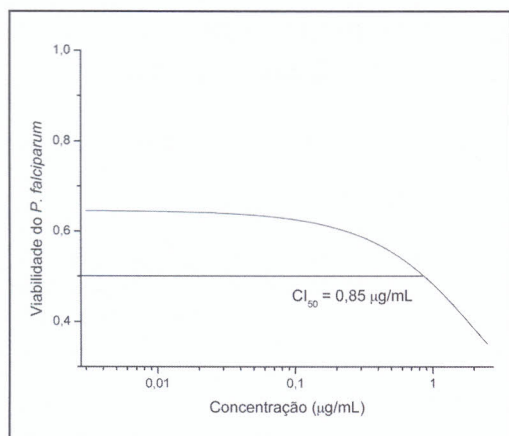


Figura 1 - Curva de dose-resposta da cepa EVS de *P. falciparum* na presença de diferentes concentrações de cloroquina.

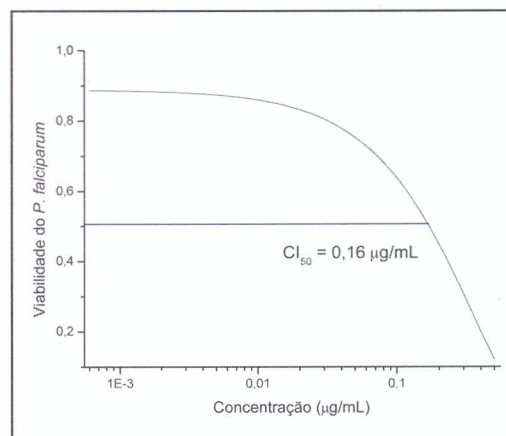


Figura 2 - Curva de dose-resposta da cepa EVS de *P. falciparum* na presença de diferentes concentrações de quinina.

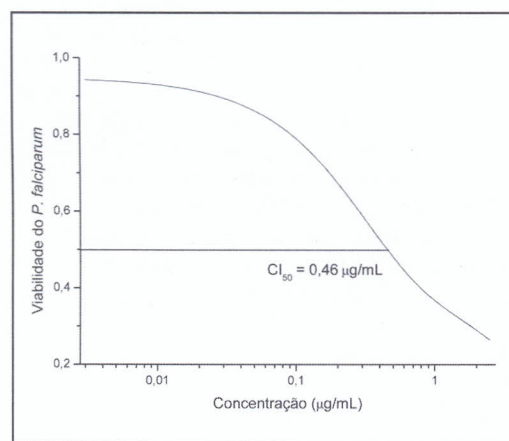


Figura 3 - Curva de dose-resposta da cepa K1 de *P. falciparum* na presença de diferentes concentrações de cloroquina.

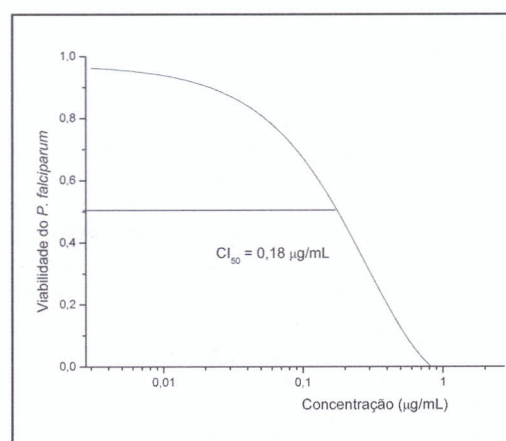


Figura 4 - Curva de dose-resposta da cepa K1 de *P. falciparum* na presença de diferentes concentrações de quinina.

**Palavras-chave:** malária; antimaláricos; resistência; *P. falciparum*

#### Bibliografias citadas

Andrade-Neto, V. F. de.; Pohlit, A. (et al). *In vitro* inhibition of *Plasmodium falciparum* by substances isolated from Amazonian antimalarial plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 102(3), 2007.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância em Saúde: Situação Epidemiológica da Malária no Brasil. Brasília, 2006.

Vieira, P. P.; Ferreira, M. U.; Alecrim, M. G. (et al). *pfcr*t polymorphism and the spread of chloroquine resistance in *Plasmodium falciparum* populations across the Amazon Basin. *J. Infect Dis.* 190, p. 417-424, 2004.

Trager, W.; Jensen, J. B. Human malaria parasites in continuous culture. *Science*. 193, p. 673-675, 1976.