

**XU Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica**

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**UIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação**

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## **Determinação das doses letais de *Candida albicans* para larvas de *Galleria mellonella* e do peptídeo A<sub>42,44</sub>R<sub>37,38</sub>W<sub>36,39</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef para *Candida albicans* como parâmetros para análise de eficácia *in vivo***

Allan da Silva Conceição, Lorrena Mendes dos Santos, Filipe Zaniratti Damica, Douglas Ribeiro Lucas, Gabriel Bonan Taveira, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

A OMS classificou o patógeno *Candida albicans* como de alta criticidade em relação aos seus riscos para a saúde humana, pela resistência aos antifúngicos e complicações no tratamento. Considerando-se esses fatores, a pesquisa de novos compostos antimicrobianos é de grande relevância. Os peptídeos antimicrobianos (AMPs, do inglês *antimicrobial peptides*) são cotados como novas substâncias terapêuticas. AMPs possuem até 100 aminoácidos, carga líquida positiva em pH fisiológico, anfipáticos, tornando-se solúveis em ambientes aquosos e com capacidade de interação com membranas. O AMP A<sub>42,44</sub>R<sub>37,38</sub>W<sub>36,39</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef (apelidado de WR), bioinspirado da defesa de *Vigna unguiculata*, mostrou ter dose letal de 27,5µM sobre *C. albicans* (CE022) em testes *in vitro*, sendo seu mecanismo de morte celular bem entendido. Também é o menos tóxico para macrófagos de mamíferos, comparado à peptídeos similares, sem causar lise em hemácias. Testes com larvas de *Galleria mellonella* já se mostraram efetivos na avaliação de compostos com possíveis aplicações farmacológicas, com as vantagens da similaridade de seu sistema imune inato com o de humanos, fácil manejo, menor custo de manutenção e de experimentação e por não haver barreiras éticas. Logo, visamos determinar parâmetros para a análise de eficácia de WR sobre modelo de infecção fúngica *in vivo*. Assim, larvas no sexto instar (250-300mg) receberam injeções intrahemocélicas de PBS (pH 7,3; [NaCl]=30mM) e de diferentes doses de *C. albicans* (SC5314), sendo incubadas à 37°C por seis dias e avaliadas quanto a infecção pelo Índice de Saúde (IS), que é o resultado individual da soma da pontuação nos aspectos atividade, melanização, casulo e vida larvais (0-10 pontos). Visto que a cepa SC5314 é um isolado clínico, diferente de ensaios anteriores, foi reavaliada a dose letal de WR *in vitro* com mesmos procedimentos. Foi observado que o IS decresce de forma dose-dependente, *i.e.* a infecção progride levando as larvas à morte. Há pouca variação de peso entre o dia da inóculo e o dia de morte de larvas infectadas, comparada ao controle (PBS), sugerindo queda no metabolismo e de processos fisiológicos *e.g.* pupação e produção de seda. Foi determinada a concentração ideal de leveduras como 1,0x10<sup>6</sup> células/larva, pois o período entre a inoculação e morte se dá em torno de 120h, adequada à intervenção com o AMP de interesse. A LD<sub>100</sub> para a cepa SC5314 foi de 60µM, maior que para a CE022. Serão feitos ensaios para a determinação da carga microbiana, ensaios de toxicidade e microscopia eletrônica no intuito de esclarecer se WR possui eficácia similar à dos fármacos de referência, tornando-se alternativa viável aos mesmos.

Instituição do Programa de IC, IT ou PG: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Eixo temático: Biociências e Biotecnologia.

Fomento da bolsa (quando aplicável): Capes-CNPq

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



**XU** Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

**28<sup>o</sup>**

Encontro de Iniciação Científica da UENF

**20<sup>o</sup>**

Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense

**16<sup>a</sup>**

Jornada de Iniciação Científica da UFF



**U III** Congresso Fluminense de Pós-Graduação

**23<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UENF

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense

**8<sup>a</sup>**

Mostra de Pós-Graduação da UFF

## Determining the lethal doses of *Candida albicans* for *Galleria mellonella* larvae and of the peptide A<sub>42,44</sub>R<sub>37,38</sub>W<sub>36,39</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef for *Candida albicans* as parameters for *in vivo* efficacy analysis

Allan da Silva Conceição, Lorrena Mendes dos Santos, Filipe Zaniratti Damica, Douglas Ribeiro Lucas, Gabriel Bonan Taveira, Valdirene Moreira Gomes, André de Oliveira Carvalho

The WHO has classified the *Candida albicans* pathogen as highly critical in terms of its risks to human health, due to its resistance to antifungals and complications in treatment. Considering these factors, the research of new antimicrobial compounds is of great relevance. Antimicrobial peptides (AMPs) are considered as new therapeutic substances. AMPs have up to 100 amino acids, a positive net charge at physiological pH, and amphipathic properties, making them soluble in aqueous environments and capable of interacting with membranes. The AMP A<sub>42,44</sub>R<sub>37,38</sub>W<sub>36,39</sub>Y<sub>32-46</sub>VuDef (nicknamed WR), inspired by the defensin from *Vigna unguiculata*, has shown a lethal dose of 27.5µM against *C. albicans* (CE022) in *in vitro* tests, with its mechanism of cell death well understood. It is also less toxic to mammalian macrophages compared to similar peptides, without causing hemolysis. Tests with *Galleria mellonella* larvae have already proven effective in evaluating compounds with potential pharmacological applications, offering advantages such as the similarity of their innate immune system to that of humans, easy handling, lower maintenance and experimentation costs, and the absence of ethical barriers. Therefore, we aim to determine parameters for assessing the efficacy of WR on an *in vivo* fungal infection model. Larvae in the sixth instar (250-300mg) received intrahemocoelic injections of PBS (pH 7.3; [NaCl]=30mM) and different doses of *C. albicans* (SC5314), and were incubated at 37°C for six days. They were then evaluated for infection using the Health Index (HI), which is the individual result obtained by summing the scores for activity, melanization, cocoon, and larval lifespan (0-10 points). Since the SC5314 strain is a clinical isolate, different from previous assays, the lethal dose of WR *in vitro* was reevaluated using the same procedures. It was observed that the HI decreases in a dose-dependent manner, indicating that the infection progresses, leading to larval death. There is little weight variation between the day of inoculation and the day of death of infected larvae, compared to the control (PBS), suggesting a decline in metabolism and physiological processes such as pupation and silk production. The optimal concentration of yeast was determined to be 1.0x10<sup>6</sup> cells/larva, as the period between inoculation and death is around 120 h, suitable for intervention with the AMP of interest. The LD100 for the SC5314 strain was 60µM, higher than that for CE022. Assays will be conducted to determine microbial load, toxicity, and electron microscopy in order to clarify whether WR exhibits similar efficacy to reference drugs, thus becoming a viable alternative to them.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

