

# Isolamento de *Leishmania* sp em meios acelulares de cultura, suplementados com urina humana estéril e, na ausência de soro fetal bovino

M. Fátima L. ARAÚJO; Fábio A. COLOMBO; Elaine A. CUNHA; Helena H. TANIGUCHI; Márcia C. BISUGO; Eleane L. GARCIA; Rosângela GARCIA; J. Eduardo R. BARBOSA; J. Augusto R. BARBOSA; Andréa S. GARCIA; J. Eduardo TOLEZANO  
Instituto Adolfo Lutz – Seção de Parasitoses Sistêmicas- São Paulo – Brasil

A ação da urina humana no desenvolvimento in vitro de *Leishmania* vem sendo investigada há vários anos como alternativa de fornecimento de fatores de enriquecimento para a proliferação destes protozoários.

A lógica para a utilização de urina como fator de crescimento de *Leishmania* deve-se à importância da urina de insetos vetores na metaciclogênese de tripanossomatídeos<sup>3</sup>.

Embora não esteja totalmente esclarecido qual ou quais “fatores” da urina humana atuem na proliferação parasitária, sua utilização parece demandar um menor número de organismos para o estabelecimento de cultivos primários, talvez induzindo a metaciclogênese.

Sabe-se ainda que a urina humana contém fator de crescimento epidérmico e que, tripanossomatídeos, possuem receptores para este fator<sup>2</sup>.

Recentemente, alguns dos autores do presente trabalho avaliaram o efeito da urina humana estéril no desenvolvimento de *Leishmania* (V.) *braziliensis*, tendo observado que o número de parasitas por mililitro de cultura foi entre 2 e 10 vezes maior nas culturas suplementadas com urina. Verificou-se também, que a fase logarítmica de crescimento foi prolongada em mais de 5-10 dias nas culturas suplementadas<sup>1</sup>.

No presente estudo foi avaliado o efeito da suplementação de urina humana estéril (UHE) como “fator de crescimento” em tentativas de isolamento de *Leishmania* sp (desenvolvimento primário) em meios de cultura acelular na ausência de soro fetal bovino.

Aspirado de fígado e/ou baço de 30 cães com suspeita de leishmaniose visceral canina (LVC) e aspirado de lesões cutâneas de 5 hamsteres inoculados com macerado de biópsias colhidas de lesões cutâneas de leishmaniose tegumentar americana (LTA) de diferentes animais silvestres, constituíram as amostras semeadas em meios de cultura bifásico suplementados com urina humana estéril.

Das amostras de *Leishmania* isoladas dos cães com LVC, os protozoários foram contados em câmaras de Neubauer desde o 4º até o 28º dia após a semeadura da amostra investigada.

Isolamento de *Leishmania* sp.:

a. de um total de 30 cães com suspeita de LVC, *Leishmania* foi isolada de 23 cães (76,7%) em culturas em meios bifásicos suplementados com UHE;

b. de outra parte, dos 30 cães apenas 6 (20,0%) isolados em culturas em meios bifásicos sem suplementação de UHE;

c. dos 5 hamsteres inoculados com LTA, *Leishmania* foi isolada em 100% das tentativas, tanto em cultivos em meios bifásicos suplementados com UHE como naqueles sem suplementação;

d. as tentativas de cultivo de *Leishmania* com utilização de caldo Tryptone Casein Soya Broth (TSB) como fase líquida em meios bifásicos raramente possibilitaram sucesso no isolamento do parasita;

e. várias tentativas de cultivo de *Leishmania* em “meio UHE” sem qualquer outro componente resultaram sempre negativas.

Até o 4º dia após a semeadura, o número de parasitas/ml nas culturas suplementadas com 5% de UHE foi, aproximadamente, o mesmo observado nas culturas sem adição de UHE (Fig.1).

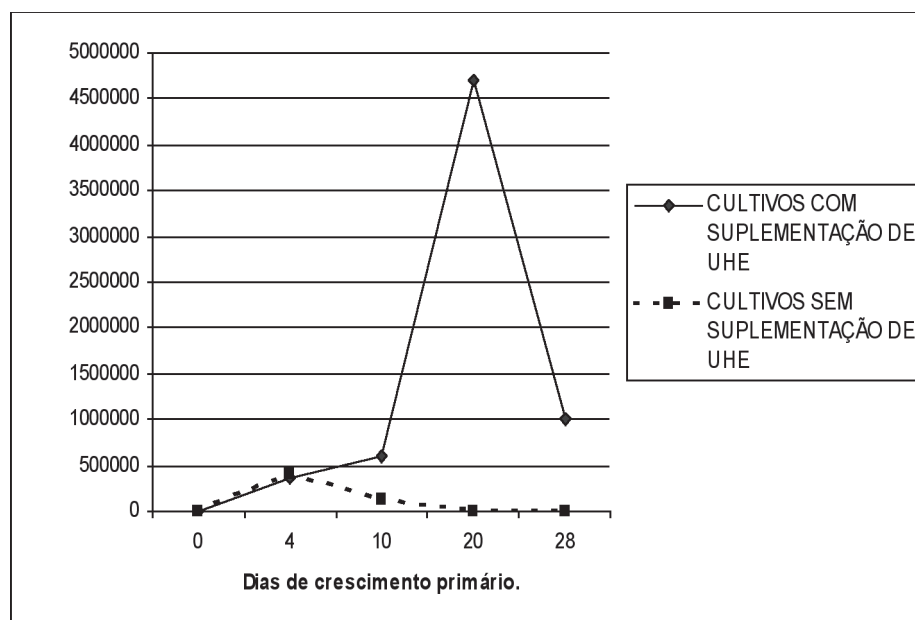
Já, a partir do 8º e até o 28º dia, nas culturas com suplementação de UHE o número de promastigotas/ml foi sempre maior do que 4,5 vezes ao verificado nos cultivos sem adição de UHE (Fig.1).

A fase logarítmica de crescimento foi prolongada para além do 18º – 200 dia de cultivo na condição de suplementação com UHE.

A utilização de urina humana estéril como suplemento para o crescimento primário de *Leishmania* mostrou-se extraordinariamente eficaz, revelando uma possibilidade de quase quadruplicar o número de isolamentos.

O crescimento de *Leishmania* é significativamente maior e mais prolongado em cultivos com a adição de urina humana estéril.

A urina humana estéril deve ser utilizada rotineiramente em serviços que utilizam culturas como procedimento diagnóstico para as Leishmanioses.



**Figura 1.** Curvas de crescimento primário de *Leishmania* sp. em meio bifásico suplementado com 5% de urina humana estéril (UHE) e sem adição de soro fetal bovino.

## REFERÊNCIAS

1. Araújo, M.F.L. et al. – Human sterile urine as *Leishmania* enrichment factor for *Leishmania* development in vitro in absence of foetal serum calf. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** 44(12), 360, 2002.
2. Hide, G.; Gray, A. & Tit, A. – Identification of an EGF receptor homologue in trypanosomes. **J. Cell. Biochemistry**, (13E), 106, 1989.
3. Howard, M.K. et al - Human urine stimulates growth of *Leishmania* in vitro. **Trans. R. S. Trop. Med. Hyg.**, 86: 477-9, 1991.