

---

# Urina humana estéril como fator de enriquecimento para o crescimento primário de *Leishmania*. Influência da fonte de urina humana e do procedimento para a coleta de amostras biológicas de cães naturalmente infectados em regiões endêmicas para leishmaniose visceral

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

Há alguns meses estamos estudando a ação da urina humana sobre o desenvolvimento in vitro de *Leishmania*. Já verificamos que *Leishmania* semeada em meios bifásicos, suplementados com 5% de urina humana estéril, apresentam fase logarítmica de crescimento mais prolongada, possibilitando a obtenção de massas de parasitas exponencialmente mais elevadas. Em outro estudo demonstramos que a suplementação de urina humana estéril como fator de crescimento primário de *Leishmania* possibilitou isolamento e positividade de um número 2 a 3 vezes maior de culturas realizadas com amostras colhidas de cães naturalmente infectados, em área de transmissão natural de *Leishmania* (*L.*) *chagasi*; bem como de hamsters experimentalmente infectados por *L.* (*V.*) *braziliensis* ou por *L.* (*L.*) *amazonensis*.

A lógica para a experimentação de diferentes formulações de meio acelulares, suplementados com urina, para o desenvolvimento de *Leishmania* deve-se ao fato de ser conhecido que componentes da urina de insetos vetores desempenham importante papel na metaciclogênese de tripanosomatídeos.

Urina humana obtida de quatro diferentes fontes doadoras, um homem de 47 anos, uma mulher de 40 anos, um menino de 8 anos e uma menina de 6 anos foram esterilizadas por meio de filtração e adicionadas em tubos de meios sólidos Blood Agar Base (BAB), na concentração de 5%, calculada para o total da solução de Brain Heart Infusion (BHI) utilizada como fase líquida.

Aspirado de baço de 44 diferentes cães com diagnóstico prévio (clínico, epidemiológico e/ou parasitológico e/ou sorológico) positivo para calazar canino constituíram as amostras para isolamento de *Leishmania*. As amostras foram coletadas de formas diferentes: a vácuo,

diretamente no meio bifásico e sem vácuo, colhidas com seringa e, posteriormente semeadas no meio.

A partir do sexto dia (144 horas) e, até o vigésimo sexto dia (624 horas) após a semeadura das amostras colhidas, as culturas passaram a ser examinadas quanto à presença e densidade de formas promastigotas.

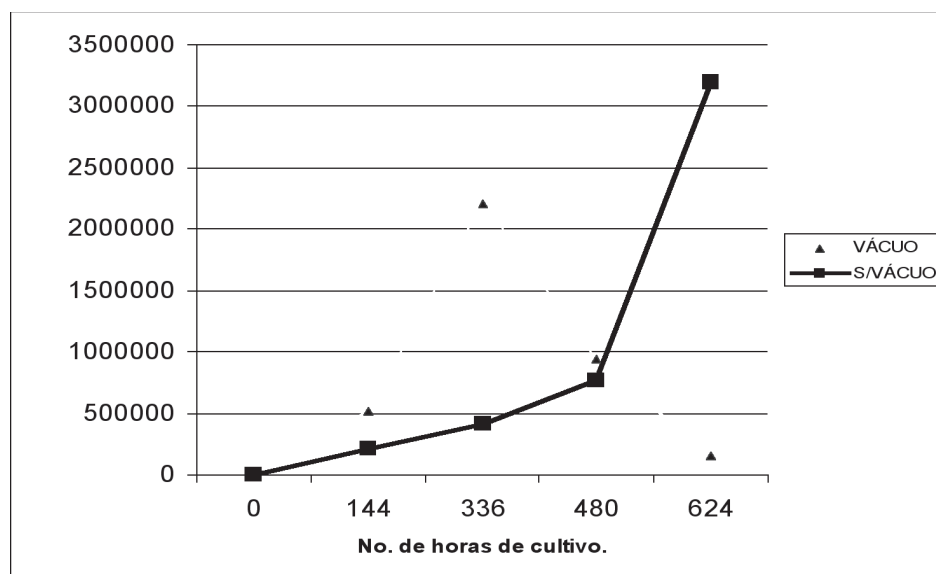
O sistema de aspiração a vácuo permitiu isolamento de *Leishmania* de 90% dos 44 cães examinados, enquanto que com o sistema de aspiração sem vácuo e posterior semeadura em laboratório, apenas, de 70% dos cães foi obtido o isolamento do protozoário. Ainda assim, a análise estatística realizada pela aplicação do teste Qui-quadrado não revelou qualquer significância para essas diferenças (Fig. 1).

Foi observado que a proliferação de parasitas foi maior naqueles cultivos realizados com amostra biológica coletada em sistema de vácuo diretamente no meio suplementado com 5% de urina humana estéril (UHE), em campo. Acreditamos que com este sistema um volume maior de amostras é inoculada no meio de cultura, bem como viabiliza utilização desse procedimento em condições de campo nas áreas com transmissão autóctone.

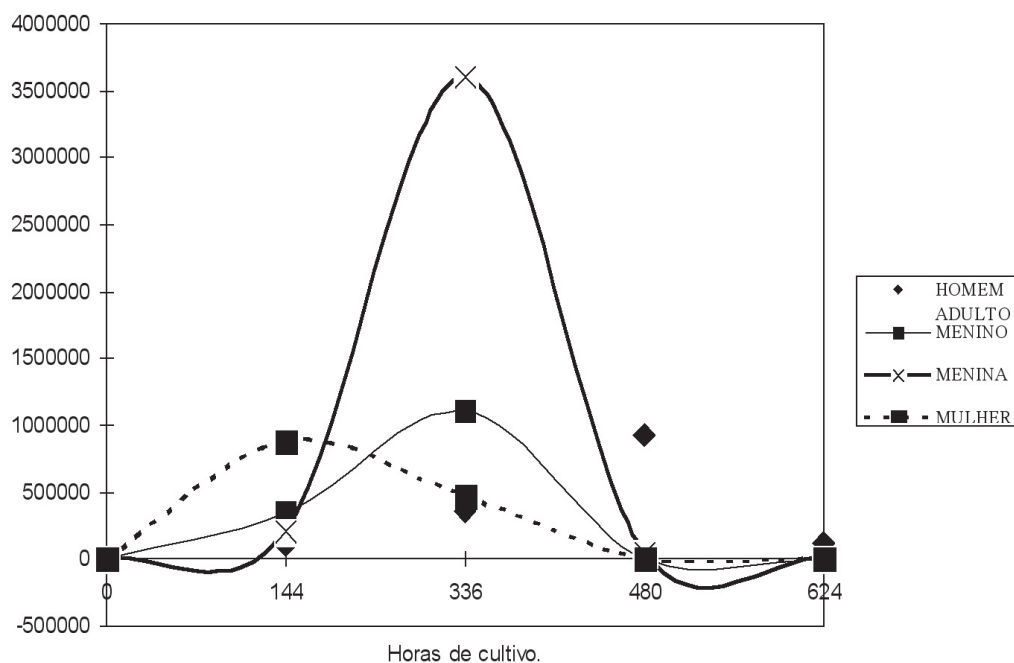
Em relação às diferentes UHE utilizadas, não observamos, por enquanto, qualquer diferença significativa ao Qui quadrado em função do sexo ou idade do doador da urina humana utilizada (Fig. 2).

Sem dúvida esta estratégia tem se mostrado uma alternativa interessante e barata de otimizar o isolamento e a proliferação de *Leishmania*.

Neste instante, continuamos realizando estudos visando identificar fator(es) de crescimento presentes na urina humana.



**Figura 1.** Curvas de crescimento primário de *Leishmania* (L.) *chagasi*, a partir de aspirado de baço de cães naturalmente infectados, coletado em sistema de vácuo e sistema sem vácuo.



**Figura 2.** Curvas de crescimento primário de *Leishmania* (L.) *chagasi* em cultivos suplementados com urina humana estéril de diferentes doadores, a partir de aspirado de baço de cães naturalmente infectados.