

## VIII ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

### PRODUÇÃO DE ANTÍGENOS DE *Toxoplasma gondii*, EM CÉLULAS VERO DESENVOLVIDAS SEM SORO FETAL BOVINO

Costa-Silva TA<sup>1</sup>, Meira CS<sup>1</sup>, Frazzati-Gallina NM<sup>2</sup>, Pereira- Chioccola VL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas do Instituto Adolfo Lutz; <sup>2</sup>Divisão Bioindustrial Instituto Butantan - São Paulo, SP. e-mail: [tha\\_isbio@yahoo.com.br](mailto:tha_isbio@yahoo.com.br)

O diagnóstico da toxoplasmose é principalmente baseado em detecção de anticorpos. Os testes mais utilizados são: reação de imunofluorescência indireta, ELISA e Avidex. Antígenos produzidos “*in house*”, normalmente mantidos em camundongos, apresentam alta especificidade e sensibilidade em relação à kits comerciais. Entretanto, quando grande a demanda de exames necessita-se de biotério e elevado número de camundongos. Logo, a produção antigênica é trabalhosa. Em vista desta problemática o presente estudo visa minimizar e/ou abolir o uso de camundongos para a produção de antígenos anti-*T.gondii*. Iniciou-se a adaptação dos taquizoítos da cepa RH em culturas de células VERO (ATCC- CCL-81) mantidas em meio livre de soro (VPM SFM AGT, Gibco- Invitrogen). Foi calculada a concentração ótima de parasitas por número de células (MOI) através da relação do nº de parasitas/nº de células. A relação foi de 2, ou seja, a partir de subcultivos de  $1,5 \times 10^6$  células o número ideal de taquizoítos foi de  $3 \times 10^6$ . A seguir realizaram-se 10 passagens seriadas dos parasitas nas culturas. Como controle, durante o período da 1<sup>o</sup> à 10<sup>o</sup> passagem, 2 grupos de camundongos foram infectados com taquizoítos provenientes de camundongos-G1 e das passagens em cultura-G2. Cada grupo foi subdividido em 2 com infecções  $10^4$  e  $10^5$  parasitas (3 animais/sub-grupo). Nenhuma alteração foi constatada na produtividade de parasitas no decorrer das infecções em todos os grupos, gerando infecções de  $10^6$  à  $10^7$  taquizoítos/ml. Em todas as passagens nas culturas foram coletadas amostras dos parasitas com objetivo de se investigar presença de alteração genética. Após a extração e purificação do DNA, realizou-se a PCR utilizando-se iniciadores que amplificam uma região altamente conservada no genoma de *T. gondii* (TOX4/TOX5). Os produtos amplificados foram sequenciados e analisados no sítio <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>. Os resultados preliminares demonstram que pelo menos até 10<sup>a</sup> passagem não foram observadas alterações na sequência de nucleotídeos, sugerindo que provavelmente, não sofrem alterações genéticas, garantindo a qualidade do antígeno.