



XI Encontro do Instituto Adolfo Lutz

Desafios do Laboratório de Saúde Pública: conhecer, monitorar e responder



04 a 07 de novembro de 2024

São Paulo/SP

e40552

• Biologia Médica

Crescimento primário e isolamento de *triptanossomatídeos* em sistemas de microcultivos

Kelly Siqueira de Souza* , Thiago Kury Moreno de Souza, Sansão da Rocha Westphalen, Eleane La Rosa Garcia, José Eduardo Tolezano 
Núcleo de Parasitoses Sistêmicas, Centro de Parasitologia e Micologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

*Autor de correspondência: kelly_siqueira_souza@yahoo.com.br

Coordenadora da Comissão Científica: Adriana Pardini Vicentini

Para o crescimento primário e isolamento de protozoários da família *Trypanosomatidae* em cultura são conhecidas várias formulações. Utiliza-se meio bifásico contendo uma base de ágar e sangue desfibrinado para a fase sólida, pode ser NNN ou BAB e como fase líquida MEM ou Schneider ou 199 ou RPMI 1640 ou BHI. A adição de soro fetal bovino inativado ou urina humana estéril como fator de crescimento. O uso de antibióticos tem a finalidade de inibir contaminação bacteriana. No presente estudo foi avaliado o microcultivo em placas de 96 poços para o crescimento primário e o isolamento de *triptanossomatídeos*. Em microplacas de 96 poços com tampa e capacidade de 300 µL por poço, foi distribuído 150 µL de BAB preparado com sangue de coelho ou carneiro ou cavalo. Após a solidificação desse gel, as microplacas foram fechadas e mantidas em geladeira até o momento de uso. Foi preparado caldo BHI, acrescido de 300 µg/mL de gentamicina e 5% de urina humana estéril. Foram testados: I. Cepas de referência de *Leishmania* (L.) *infantum*, L. (L.) *amazonensis*, L.(L.) *major*, L.(V.) *braziliensis*, semeadas em diferentes concentrações dos inóculos obtidos por diluições seriadas, desde 10e3 até 10e1 e 10e0 parasitos; II. Amostras de aspirado de baço de cães com leishmaniose visceral; III. Sangue de camundongos inoculados com *Trypanosoma cruzi*, cepas silvestres; IV. Biópsia de fígado de paciente com hepatoesplenomegalia, posteriormente confirmada com infecção natural por *Crithidia fasciculata*. Não foi observada diferença significativa para o tipo de sangue utilizado, coelho ou carneiro ou cavalo, para a produção do meio sólido BAB. Mesmo para cultivos iniciados com menos de 10 parasitos por inóculo, foram observadas proliferações equivalentes a 10e5 e até 10e7. O sistema de microcultivo apresenta vantagens importantes quando utilizada para fins diagnósticos ou obtenção de massa parasitária para identificação e caracterização do *triptanossomatídeo* isolado.

Palavras-chave. Crescimento, Isolamento, Técnicas de Cultura.

Comitê de Ética: Não declarado pelos autores.

Órgão Financiador: FAPESP Processo nº 2018/25889-4, FESIMA Processo nº 2019/10157.