

PADRONIZAÇÃO DE CULTIVO IN VITRO DE *TRYPANOSOMA EVANSI* PARA ANÁLISES DE GENOTOXICIDADE¹

Luiza Machri Ferreira², Carla Ivane Ganz Vogel³, Ketriciane Mota de Sousa⁴

¹ Vinculado ao projeto “Caracterização funcional e expressão de genes envolvidos no sistema de reparo de DNA por excisão de nucleotídeos em modelos de tripanossomatídeos submetidos a agentes genotóxicos”

² Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária – CAV – Bolsista PROBIC

³ Orientadora, Departamento de Produção Animal e Alimentos – CAV – carla.vogel@udesc.br.

⁴ Doutoranda do Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular – CAV.

Conhecido por causar a doença “Surra” ou “Mal das Cadeiras”, como é popularmente denominada, o *Trypanosoma evansi* (*T. evansi*) foi o primeiro tripanossoma a ser conhecido como causador de doenças em animais. Esta espécie de protozoário, cujo nome homenageia o primeiro veterinário a descrevê-la, Griffith Evans, parasita principalmente equinos, mas também pode, ocasionalmente, afetar outros mamíferos, como cães e bovinos. O modo de transmissão mais comum deste parasita é através de vetores mecânicos (tabanídeos, por exemplo) e o quadro clínico da enfermidade provocada abrange febre, emagrecimento progressivo, anemia e sua evolução cursa com paresia dos quartos traseiros, o que geralmente leva ao óbito.

Para preservar a integridade do material genético, os seres vivos possuem vários mecanismos que reparam danos do DNA. Um desses mecanismos é o Reparo por Excisão de Nucleotídeos (NER- do inglês *Nucleotide Excision Repair*) que remove lesões capazes de causar distorções na dupla hélice do DNA, interferir no pareamento de bases e bloquear a duplicação e transcrição do DNA. O genoma dos tripanossomatídeos contém a maioria dos componentes do NER, porém os mecanismos bioquímicos deste sistema mostram algumas diferenças significativas em relação aos outros eucariotos, o que torna o estudo de reparo nestes organismos extremamente necessário. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi padronizar o cultivo *in vitro* de *T. evansi* para ser utilizado em ensaios que avaliam o reparo diante de estresse genotóxico.

Os protozoários foram inoculados em camundongos que foram monitorados até atingirem a parasitemia de 20 a 30 parasitas por campo analisado. Após atingir o nível mínimo de parasitemia desejado, o sangue dos camundongos foi coletado e os parasitas inoculados em diferentes meios de cultivo. Foram realizadas inúmeras tentativas de encontrar o meio ideal para cultivo *in vitro* dessa espécie, entretanto poucas obtiveram sucesso devido à alta seletividade deste protozoário em relação ao meio de cultura. Os meios utilizados foram IMDM, DMEM, SDM e HAM'S, todos com adição de soro de cavalo, soro fetal bovino ou soro Plus, além do soro de coelho cujo teste não garantiu resultados eficazes. Em alguns meios também foi feita suplementação com B-mercaptoetanol e hipoxantina, assegurando uma maior sobrevivência dos parasitas. Após a aplicação dos parasitas nos meios de cultivos, foram observadas a viabilidade e a concentração dos tripanossomas diariamente, bem como após a passagem destes para um meio de cultivo novo. Ao fim das estimativas, obteve-se o resultado de maior sobrevivência no meio de cultivo HAM'S suplementado com soro de cavalo.

Tabela 1. Análise de adaptação do *T. evansi* nos meios de cultivo DMEM e HAM'S

Meio de cultivo	Tempo total de sobrevivência dos parasitas (horas / dias)
DMEM (LGC)-C	108 horas / 4,5 dias
DMEM (SIGMA)-C	42 horas / 2 dias
HAM'S-C	131 horas / 5,5 dias
DMEM/HAM'S-C	62 horas / 2,5 dias

DMEM (LGC)-C = meio DMEM da marca LGC com Soro de Cavalo

DMEM (SIGMA)-C = meio DMEM da marca Sigma com Soro de Cavalo

HAM'S-C = meio HAM'S com Soro de Cavalo

DMEM/HAM'S-C = mistura dos meios DMEM e HAM'S com Soro de Cavalo

Palavras-chave: *Trypanosoma evansi*. Reparo de DNA. Meio de cultivo.