XXX Encontro Anual de Iniciação Científica
VII Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior
eaic 2021

CARACTERIZAÇÃO BIOLÓGICA DE TRIPANOSSOMATÍDEO ISOLADO DE *Panstrongylus megistus* NA REGIÃO DE PONTA GROSSA, PR

Lívia Mendes Zacharow Pedroso (PIBIC/CNPq), Iriane Eger (Orientadora), iriane@uepg.br

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia

Parasitologia, Protozoologia de Parasitos

Palavras-Chave: *Trypanosoma cruzi, Trypanosoma rangeli, curva de crescimento, infectividade.*

Resumo

Em dezembro de 2019, foi capturado no campus de Uvaranas da UEPG um espécime de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduvidae) positivo para tripanossomatídeos intestinais. Com o objetivo de caracterizar biologicamente *in vitro* essa amostra, foi avaliada a curva de crescimento de epimastigotas em meio LIT e a capacidade de infectar e se multiplicar em células VERO. O pico da curva de crescimento de epimastigotas em meio axênico (LIT) foi observado no 7° dia, com 35x10^6 parasitos/ml. Os tripomastigotas invadiram as células, se duplicaram a cada 10,8h e completaram o ciclo de replicação intracelular em 92h. Os resultados de infectividade intracelular sugerem que o isolado seja *T. cruzi* e, portanto, a circulação desse parasito no ambiente silvestre de Ponta Grossa, PR.

Introdução

O gênero *Trypanosoma* possui importância médica, social e econômica. Na América, seus principais representantes são o *T. cruzi*, causador da doença de Chagas e o *T. rangeli*, com curso clínico assintomático, mas com sorologia cruzada com *T. cruzi*, o que dificulta o diagnóstico da doença [1]. Ambos os protozoários compartilham os mesmos hospedeiros (insetos reduvídeos e mamíferos) [2]. O objetivo desse trabalho foi caracterizar biologicamente a primeira amostra de *Trypanosoma* proveniente de *Panstrongylus megistus* (Hemiptera, Reduvidae) capturado no campus de Uvaranas da UEPG, Ponta Grossa (PR).

Material e Métodos

Para a curva de crescimento em meio axênico, 5x10^6 parasitos foram mantidos em tubos de cultura em meio LIT+20% SBF a 27°C. A concentração de epimastigotas foi determinada diariamente em câmara de Neubauer até o 21° dia. Para os ensaios de infecção e replicação intracelular *in vitro*, 2x10^4 células VERO foram semeadas em placa de 24 poços, infectadas com 10:1 tripomastigotas/célula e incubadas em meio RPMI+10% SBF a 37°C e 5% CO_2. Após 12h, os parasitos extracelulares foram removidos e a placa foi incubada nas mesmas condições. Após a remoção dos parasitos (tempo 0) e a cada 24h, 5 poços foram fixados com metanol e corados com Giemsa. A taxa de infecção intracelular foi avaliada em microscópio invertido (400x) até 72h. Quatro poços foram mantidos até a observação de tripomastigotas no sobrenadante. O tempo de duplicação (Td) foi calculado, pela fórmula:

Td = Ln2 (tempo final – tempo inicial) / 2,3 log (parasitos/célula 72h / parasitos/célula 24h)

Resultados e Discussão

Em meio axênico (LIT) o crescimento exponencial ocorreu até o 7º dia, atingindo 35x10^6 parasitas/ml. Após, a cultura gradativamente entrou em declínio, com aumento de parasitas em diferenciação e morte (Fig. 1).

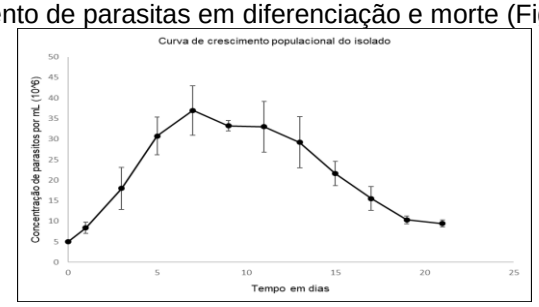


Figura 1. Curva de crescimento de formas epimastigotas do isolado em meio axênico (LIT).

Os tripomastigotas invadiram as células VERO, se diferenciaram para amastigotas, que se multiplicaram por divisão binária a cada 10,8h (Fig. 2). Cerca de 92h após infecção, os parasitos completaram o ciclo de replicação intracelular, ou seja, os amastigotas se diferenciaram em tripomastigotas, lisaram as células hospedeiras e foram observados no sobrenadante.

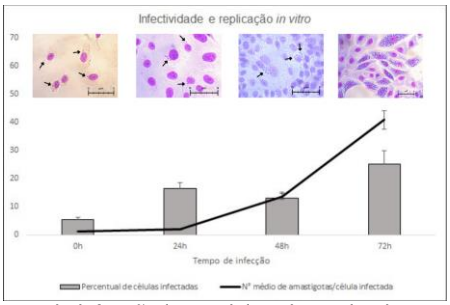


Figura 2. Taxas de infecção intracelular, determinadas em 500 células contadas aleatoriamente em cada poço. Setas indicam amastigotas.

Ao contrário de *T. cruzi*, *T. rangeli* não se replica intracelularmente *in vitro* [2]. Portanto, as características observadas sugerem que o isolado é *T. cruzi*. Estudos de identificação específica estão em andamento.

Conclusão

Os resultados de infectividade intracelular sugerem que o isolado seja *T. cruzi* e, portanto, a circulação desse parasito no ambiente silvestre de Ponta Grossa, PR.

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra. Iriane Eger, ao CNPq pela bolsa e a todos que colaboraram para a conclusão deste trabalho.

[1] MORAES, M.H. et al. Different serological cross-reactivity of *Trypanosoma rangeli* forms in *Trypanosoma cruzi*-infected patients sera. **Parasites & Vectors**. 1:20. 2008.

[2] EGER-MANGRICH, I. et al. Interaction of *Trypanosoma rangeli* Tejera, 1920 with different cells lines *in vitro*. **Parasitology Research**. 87: 505-509. 2001.

UEPG Universidade Estadual de Ponta Grossa
ISSN 1676-0093
propesp PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO