

Comparação da eficiência do glicerol e 1,2-propanediol como crioprotetores para *Trypanosoma evansi*

Daniel Pereira Duarte¹, Kaio César Simiano Tavares¹, Bruna Bristot Colombo¹, Larissa Kaori Oide Komati¹, Luisa Lemos Vieira¹ e Luiz Claudio Miletti¹

¹Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina

1. Objetivos

O *Trypanosoma evansi* é um protozoário digenético da seção salivaria, agente etiológico da doença conhecida como mal das cadeiras ou surra em eqüinos. Há uma grande discussão sobre a representividade das cepas mantidas em laboratório, pois aparentemente há uma adaptação do parasito ao seu hospedeiro [1], o que pode alterar as características do protozoário. Assim a criopreservação do parasito logo após seu isolamento no campo aparece como uma alternativa viável. Entretanto, os métodos de criopreservação foram desenvolvidos há vários anos e podem implicar em danos ao protozoário dependendo do crioprotetor. O 1,2-propanediol é amplamente utilizado em criopreservação de células [2], mas não há descrição do seu uso com parasitos. O objetivo deste trabalho foi comparar o comportamento do *Trypanosoma evansi* em camundongos (*Mus musculus*) após a inoculação de doses criopreservadas com diferentes crioprotetores, glicerol e 1,2-propanediol.

2. Material e Métodos

5 mL de sangue contendo 10^9 tripomastigotas/mL foram distribuídos igualmente em 10 criotubos com 10% de crioprotetor, cinco com glicerol e cinco com 1,2-propanediol. As amostras foram submetidas ao vapor de nitrogênio líquido a uma distância de dez centímetros por cinco minutos e após mergulhadas no mesmo a -196°C . Ao mesmo tempo 2 animais foram inoculados com 10^4 tripomastigotas totais da mesma origem dos congelados, formando o Grupo Controle (GC). Após 60 horas, as amostras congeladas foram reaquecidas a 37°C por cinco minutos e imediatamente inoculadas em 10 camundongos formando dois grupos, sendo um com cinco animais que receberam os parasitos criopreservados com glicerol (GG) e outros cinco animais que receberam os parasitos criopreservados com 1,2-propanediol (GP). Os animais foram avaliados por 15 dias quanto ao

período pré-patente, pico de parasitemia e longevidade através de esfregaços sanguíneos periféricos a cada 12 horas. Realizou-se a análise estatística dos dados por meio da análise de variância (ANOVA), seguida do teste de Tukey para comparação entre as médias.

3. Resultados e Discussão

Não houve variação estatística entre os grupos GG e GP nos parâmetros propostos (Tabela 1) portanto, não há diferenças entre utilização de glicerol e 1,2-propanediol na criopreservação de *Trypanosoma evansi*. Entretanto observou-se que devido a menor viscosidade, o 1,2-propanediol é de mais fácil manipulação, permitindo uma maior eficiência na realização das re-infecções utilizando amostras congeladas. Outros crioprotetores não utilizados normalmente para a criopreservação de parasitos estão sendo avaliados.

4. Conclusão

Não há diferença significativa no uso dos crioprotetores utilizados, mas observou-se que a fluidez do 1,2-propanediol o torna de mais simples manuseio.

Tabela 1 - Médias dos Grupos para Período Pré-Patente, Longevidade e Pico de Parasitemia.

	GC	GG	GP
Período Pré-Patente (dias)	0,5 ^a	1,4 ^b	1,3 ^b
Longevidade (dias)	2,5 ^c	8,1 ^d	6,2 ^d
Pico de Parasitemia (tripomastigotas/campo)	85,5 ^e	58,2 ^f	60 ^f

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

5. Referências Bibliográficas

- [1] Deane, M.P. et al. *Trypanosoma cruzi*: strain selection by different schedules of mouse passage of an initially mixed infection. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984; 79(4): 495-7.
- [2] Day, J.G. et al. *Methods in Molecular Biology: Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. 2 ed. Humana Press. 2007; 347.