

Simón, MX.¹, Tomasina, R.^{1,2}, Cabrera, A.^{1,2}, Robello, C.¹ y Greif, G.¹

1 Laboratorio de Interacciones Hospedero-Patógeno, Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay. 2 Unidad Académica de Parasitología y Micología, Facultad de Medicina, Udelar, Uruguay. **Contacto:** xsimon@pasteur.edu.uy

Trypanosoma evansi es el parásito causante de la enfermedad de Surra que afecta principalmente equinos y dromedarios, aunque también a diversos animales domésticos y silvestres. Se considera una subespecie de *Trypanosoma brucei*, adaptada al ciclo monogénico, independiente del insecto vector, lo que le permite completar su ciclo de vida y expandirse a regiones donde este no está presente. La dispersión de animales infectados, junto con la adaptación del parásito a la transmisión mecánica, ha favorecido su amplia distribución geográfica, abarcando Asia, África y Sudamérica. En nuestro laboratorio hemos puesto a punto estrategias de aislamiento, cultivo *in vitro*, diagnóstico e imagenología de *T. evansi*.

AISLAMIENTO Y CULTIVO

Producción de parásitos *in vivo*

Inoculación intraperitoneal de parásitos



Extracción de sangre en pico de parasitemia

Centrifugación suave a 1000g

Percoll/sac/gluc y Centrifugación 30 min a 15000g

Extracción de ADN o ARN

Preparación de extracto antigénico

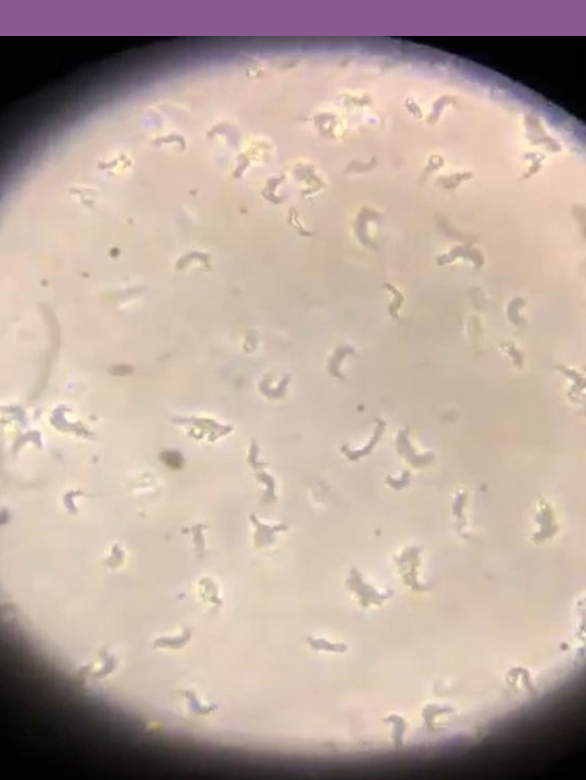
Cultivo *in vitro*

Medio de cultivo HMI-9 optimizado

10⁶ parásitos/mL

Criopreservación

Escalado



Cultivo de *T. evansi* (400x)

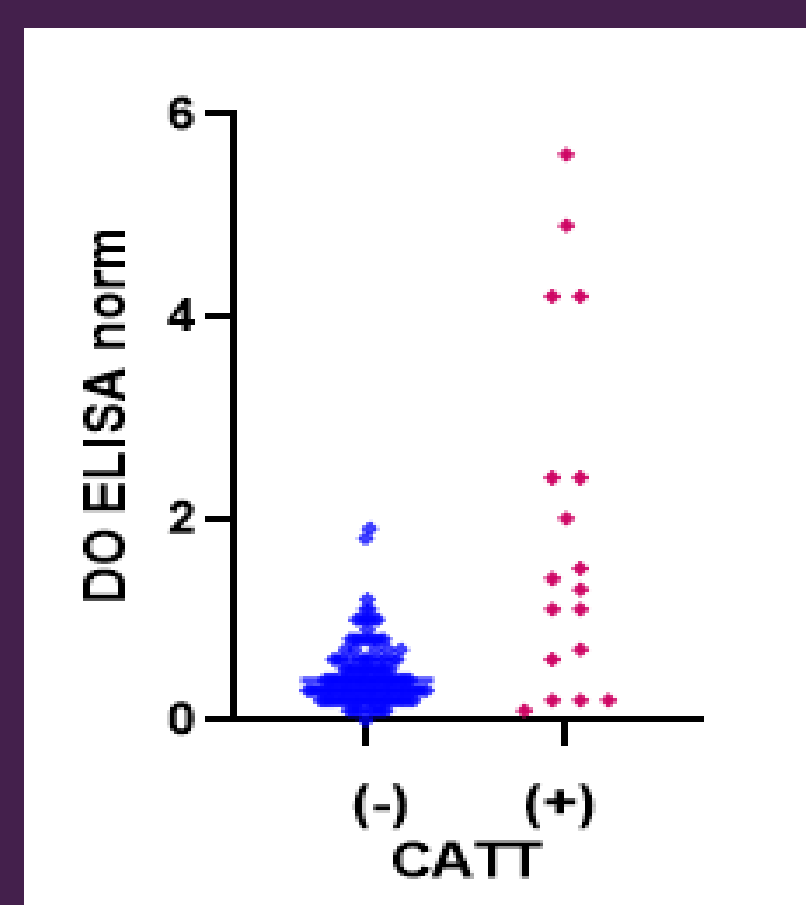
Se obtuvieron cultivos estables (con más de 10 pasajes) y un rendimiento de 10⁶ parásitos/mL, lo cual hace posible un escalado productivo.

DIAGNÓSTICO

ELISA

Técnica de referencia CATT/Tevansi y ELISA con lisado de parásitos

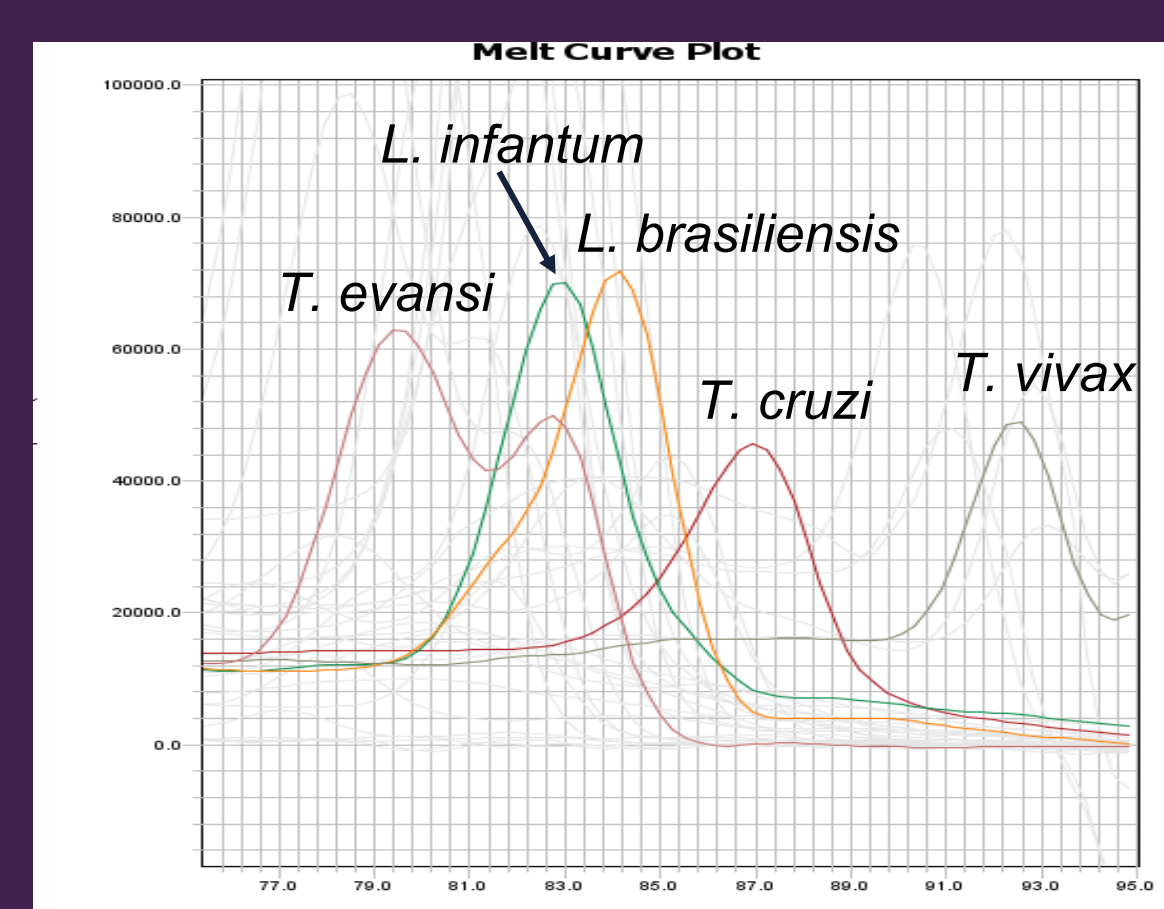
	CATT (+)	CATT (-)	Total
ELISA (+)	12	3	15
ELISA (-)	6	130	136
Total	18	133	151



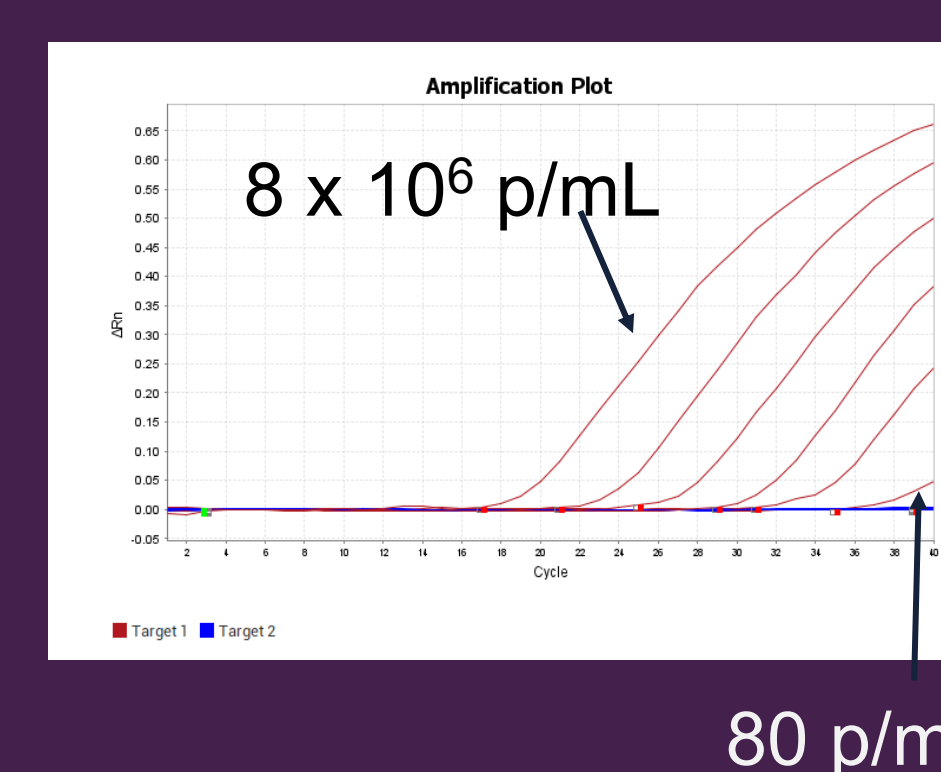
- Las técnicas de ELISA y CATT resultan complementarias para la detección serológica de las diferentes cepas circulantes en la región.
- Es necesario obtener mayor número de muestras confirmadas para poder validar el ensayo de ELISA.

PCR

Identificación de especies



Identificación y cuantificación utilizando sondas

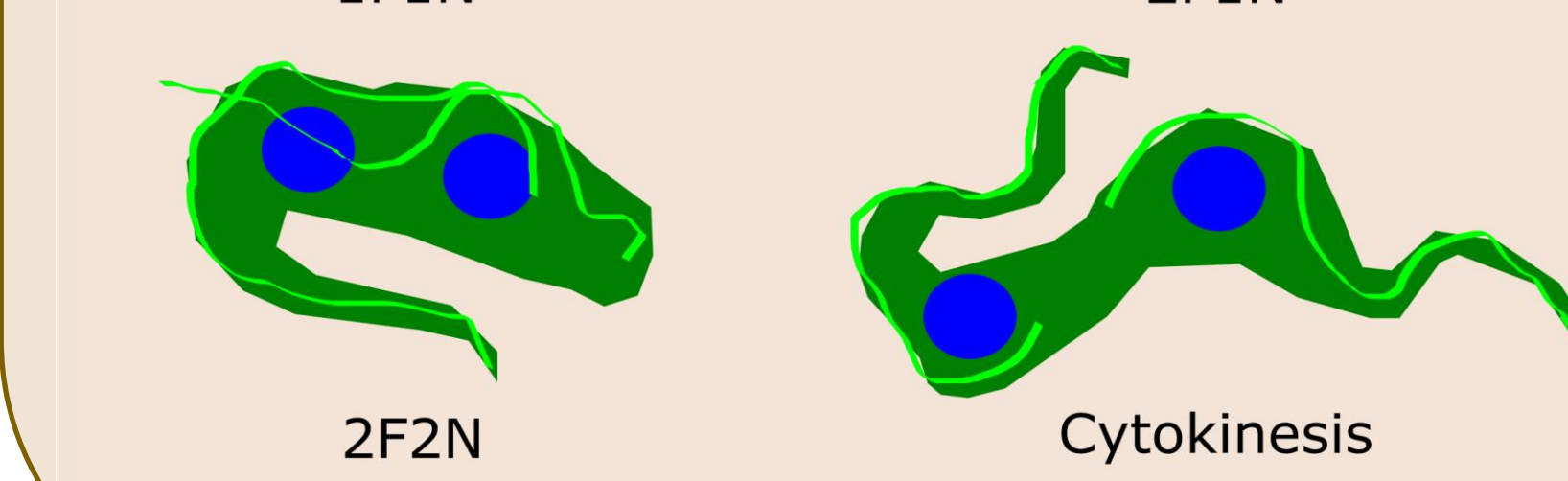
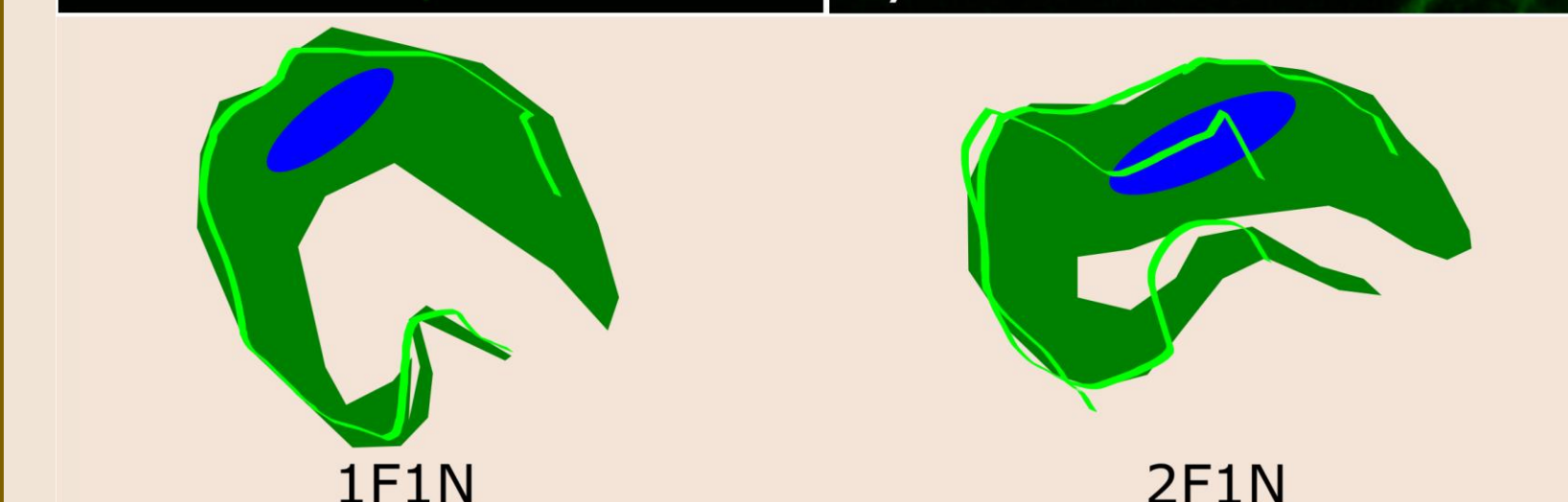
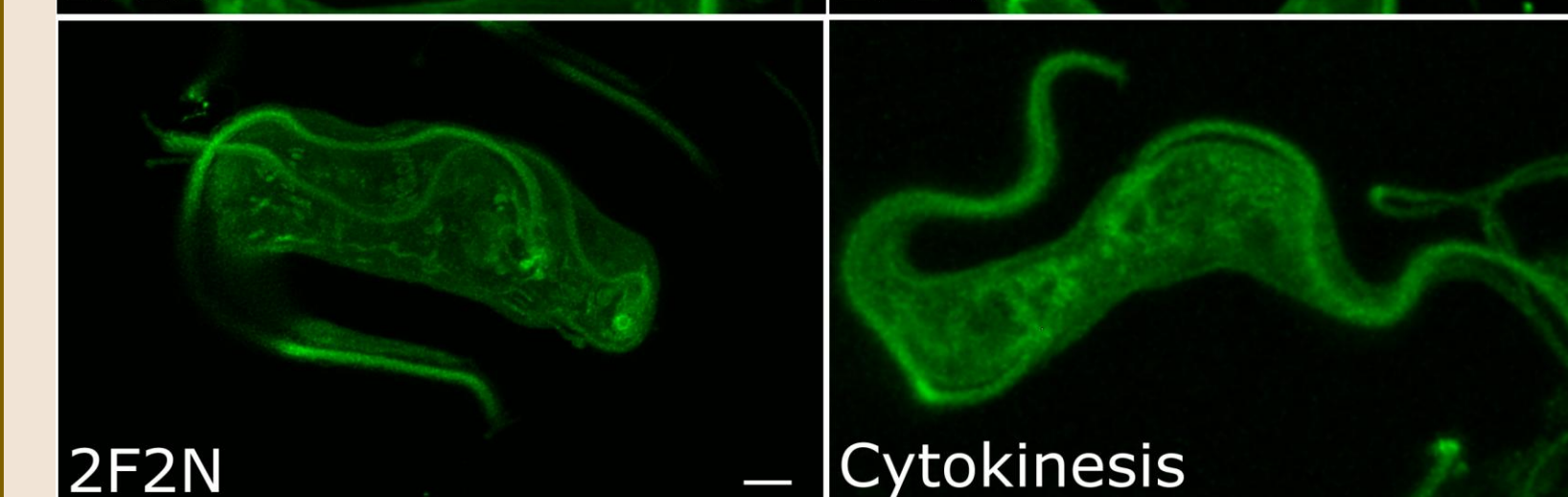
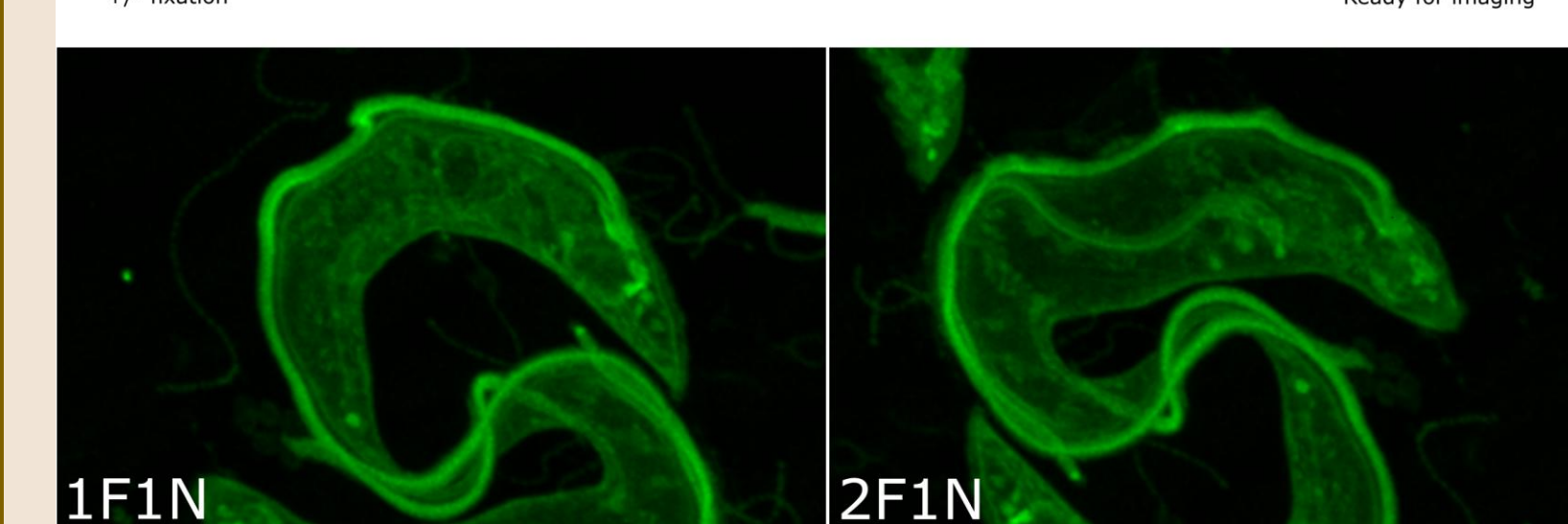
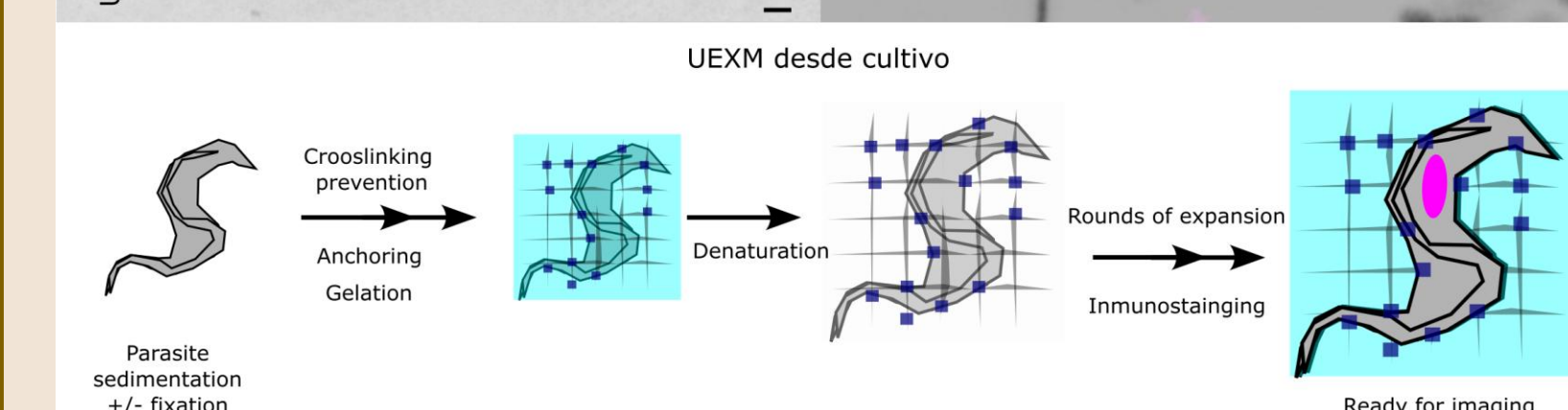
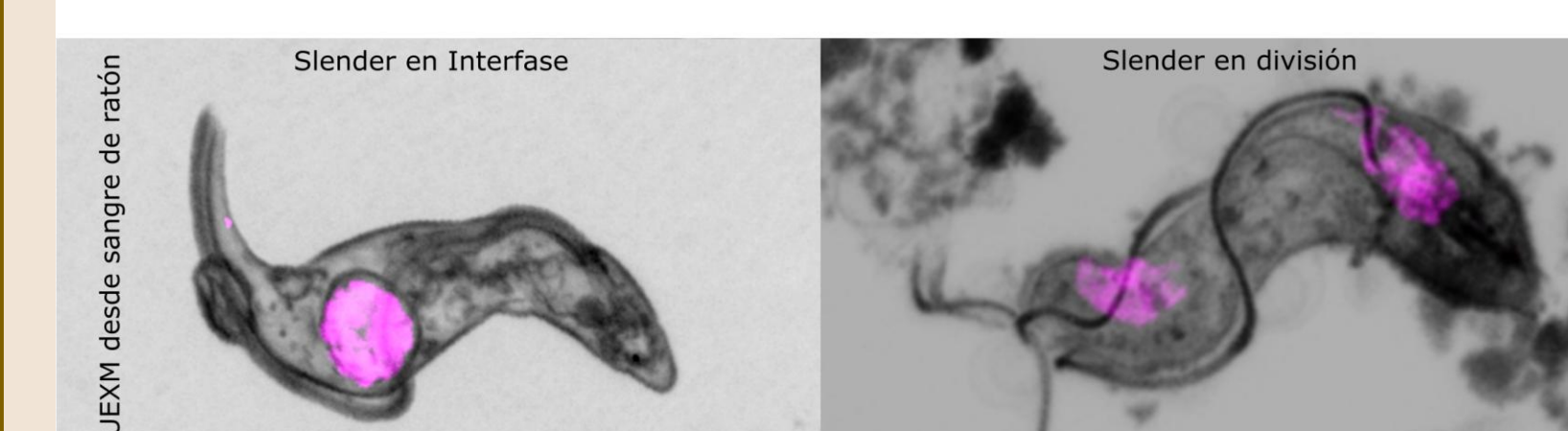
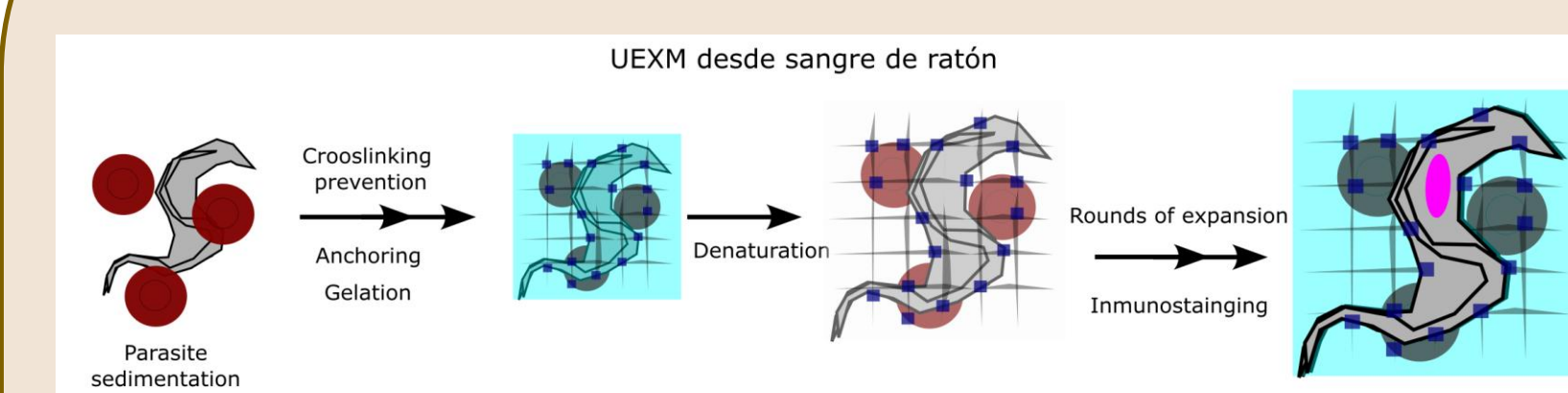


- Mediante la amplificación de la región ITS1, utilizando SYBRGreen y posterior análisis de curvas de melting, se pueden identificar diferentes tripanosomátidos.

- Adicionalmente se desarrolló una qPCR utilizando sondas Taqman que permite identificar diferencialmente el parásito y calcular parasitemia en sangre de animales infectados.

MICROSCOPIA

Microscopía de expansión



Conclusiones:

- Se logró propagar el parásito *in vitro*, lo cual permite la independencia de modelos animales para su estudio y producción de antígenos.
- Se ajustó un ensayo de ELISA para la detección de anticuerpos contra *T. evansi*, utilizando un lisado de parásitos.
- Se optimizaron 2 formatos de qPCR para la detección y cuantificación del parásito, una utilizando SYBRGreen y otra mediante sondas TaqMan.
- Se realizaron estudios estructurales utilizando microscopía de expansión, donde se visualizan las diferentes etapas de la división celular en cultivo.
- Todas estas herramientas en su conjunto permiten profundizar en el conocimiento de este parásito emergente en la región, así como ayudar a su detección y medidas de control.

Financiación: ANII, Fondo María Viñas, FMV_1_2023_1_176013.
Con apoyo de: Posgrado en Biotecnología, Facultad de Ciencias, Udelar, Sistema Nacional de Investigadores, Programa de Desarrollo de Ciencias Básicas. Instituciones participantes: