RESUMO - HELMINTOLOGIA

PADRONIZAÇÃO DE PROTOCOLO DE CRIOPRESERVAÇÃO DO NEMATOIDE METARHABDITIS SPP. ISOLADO DO OUVIDO DE BOVINOS

Gabriela Lasmar Peixoto (gabrielap.lasmar@gmail.com)

Larissa Machado De Oliveira Maia (larissamachadomaia@gmail.com)

Ander Castello Branco Santos (anderr91232@gmail.com)

Julia Rodrigues Genuncio (juliargenuncio@gmail.com)

Eduardo José Lopes Torres (lopestorresej@gmail.com)

Infecções causadas por nematoides em animais de produção possuem impacto global com maior gravidade em localidades onde as condições sanitárias são inadequadas. Destacam-se as infecções intestinais e a otite bovina, com especial atenção em gado leiteiro. A otite parasitária está associada aos nematoides Metarhabditis no Brasil, acometendo o ouvido externo e interno de bovinos da raça Gir devido a sua anatomia auricular. Os sinais clínicos incluem secreção purulenta, constante movimentação da cabeça e perda de apetite, causando prejuízo econômico devido a perda de peso do animal e redução na produção de leite. Apesar da sua crescente relevância clínica e epidemiológica, ainda não há tratamento eficaz, não se conhece o mecanismo de transmissão e nem detalhes sobre o ciclo de vida do parasito. O objetivo deste estudo foi em

desenvolver um protocolo eficiente de criopreservação de amostras coletadas em campo para o aperfeiçoamento da manutenção in vitro destes nematoides, bactérias e fungos, potencialmente envolvidos no estabelecimento e evolução da otite. As amostras utilizadas foram coletadas na Fazenda Castanhal, no estado do Pará em 2019, cultivadas em NGM à 22ºC em uma BOD e submetidas a um protocolo de congelamento adaptado. Para o congelamento, os nematoides foram lavados com PBS 1x, centrifugados e transferidos para criotubos contendo a solução crioprotetora. As amostras foram mantidas em temperatura ambiente por 15 minutos, em seguida, os criotubos foram acondicionados em recipiente de congelamento controlado Nalgene® Mr. Frosty, permitindo taxa aproximada de resfriamento de -1 °C/min e mantidos em freezer a -80 °C por período overnight. Posteriormente, os tubos foram armazenados em uma caixa criogênica. Para recuperação dos nematoides, as amostras foram retiradas do freezer -80 °C, transferidos para um freezer a -20 °C por 20 minutos. Em seguida, os tubos foram retirados do freezer e o descongelamento foi concluído por aquecimento manual, mantendo o tubo em contato com a mão até a completa liquefação. Após o descongelamento das amostras, o conteúdo foi repicado em meio NGM suplementado com E. coli e mantido em estufa BOD à 22ºC por 24h. Como resultado, tivemos uma de recuperação de 62%, superando o patamar máximo de 5% observado em outras metodologias. O método proposto otimiza o cultivo in vitro desses nematoides, assegurando maior estabilidade das colônias e o controle de diferentes cepas, incluindo exemplares selvagens e permitindo o monitoramento das gerações mantidas em laboratório sob condições controladas.

Palavras-chave: helmintos; otite; leiteiro.