

## MÉTODO PARA CULTURA DE *TRYPANOSOMA CRUZI* EM LARGA ESCALA POR AREJAMENTO (BORBULHAMENTO DE AR) <sup>(1)</sup>

### CULTURE OF *TRYPANOSOMA CRUZI* IN GREAT VOLUMES BY AIR BUBBLING

ETTORE RUGAI <sup>(2)</sup>  
ALTEMISIA MOREIRA DE SOUZA <sup>(2)</sup>

#### SUMMARY

A technic for culture of *Trypanosoma cruzi* in great volums of liquid media by air bubbling was described.

Each operation of 7.l of liquid media produced a mean of 1.2 g of dry *Trypanosoma cruzi*.

The technic can be adapted for greater volums of culture media.

#### INTRODUÇÃO

Para a obtenção de culturas ricas em *Trypanosoma cruzi* nos meios líquidos, é necessário trabalhar com meio em pouca profundidade, e agitação freqüente durante a incubação. Por êstes motivos, fica sempre limitado o volume do meio empregado em cada frasco, dificultando obviamente a obtenção de grandes quantidades de tripanosomos

A técnica apresentada, com borbulhamento contínuo de ar durante a incubação, torna possível o emprêgo de grandes volumes do meio de cultura.

As provas, em escala piloto, foram feitas com volumes de 7 litros de meio de cultura. O meio empregado foi o de RUGAI & RUGAI <sup>(3)</sup>.

#### MATERIAL E MÉTODO

##### MATERIAL

- a) Meio de cultura líquido (RUGAI & RUGAI) . . . 7 000 ml  
Álcool octadecílico <sup>(4)</sup> . . . 2 g  
Água destilada <sup>(5)</sup> . . . . . 500 ml
- b) Frasco com capacidade de 10 litros, montado conforme o desenho da página seguinte.
- c) Motor de aquário.

##### MÉTODO

- a) *Montagem do aparelho, com o meio de cultura*
  - 1. Colocar no frasco de 10 l o meio de cultura, o álcool e a água destilada.
  - 2. Colocar a rôlha de borracha com as tubuladuras, sem o motor, e

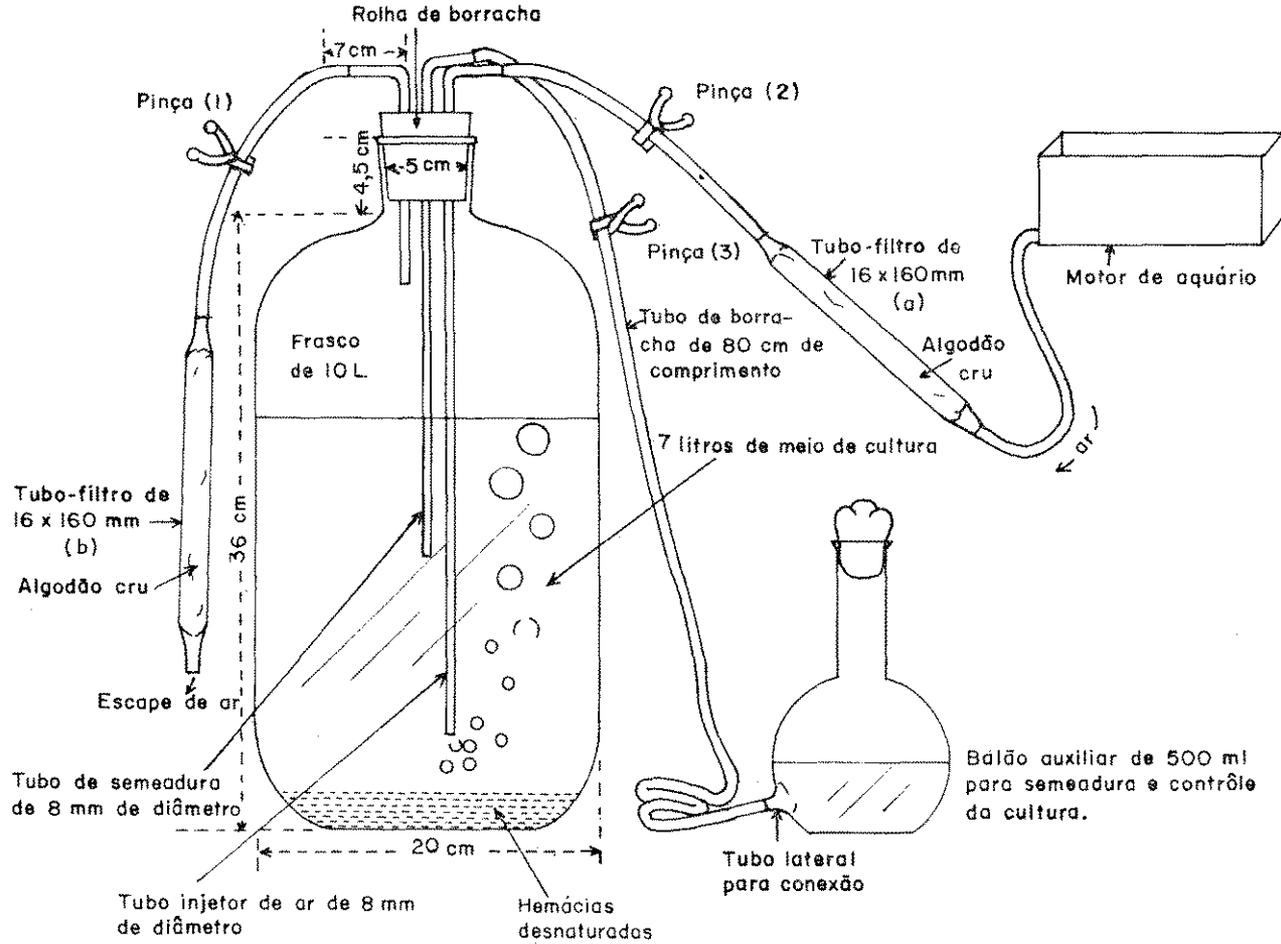
(1) Trabalho realizado na Seção de Reagentes Biológicos do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

(3) RUGAI, E. & RUGAI, R.T. — Meio de cultura para *Trypanosoma cruzi* esterilizável pelo calor. Rev. Inst. Adolfo Lutz 25/27: 61-63, 1965/67.

(4) Anti-espuma

(5) Para compensar a água evaporada durante a esterilização.



amarrar a rôlha no gargalo do frasco, firmemente, com barbante grosso.

3. Fechar o tubo-filtro injetor de ar (pinça 2 da figura) e o tubo ligado ao balão auxiliar (pinça 3). Deixar aberto o tubo filtro de escape de ar (pinça 1).
4. Esterilizar o conjunto a 115°C, durante 40 min. (deixar em vapor fluente, 10 min. antes de fechar a válvula). Repetir a esterilização após 24 horas.
5. Depois de resfriado o conjunto, levantar o tubo-filtro *a* acima do nível do gargalo do frasco e abrir a pinça 2 para que o líquido que subiu no tubo durante a esterilização reflua para o frasco, evitando que o algodão se molhe. O balão auxiliar ainda não contém meio de cultura.

b) *Passagem de meio para o balão auxiliar e semeadura*

1. Fechar o tubo de escape (pinça 1).
2. Manter aberta a entrada do ar (pinça 2)
3. Abrir o tubo de ligação com o balão auxiliar (pinça 3).
4. Soprar pelo tubo-filtro *a* para iniciar a sifonagem, trasladando o volume de 200 ml aproximadamente. Abrir o tubo-filtro *b* de escape e fechar o tubo de ligação com o balão auxiliar (pinça 3).
5. Semear no balão auxiliar cerca de 5 ml de cultura de tripanossomos de 8 a 12 dias, feita em meio de Rugai & Rugai.
6. Colocar todo o aparelho na estufa a 28°C.
7. Observar o desenvolvimento da cultura no balão auxiliar pela turvação ou ao microscópio, se houver suspeita de contaminação.
8. Desenvolvida a cultura, abrir a pinça 3 e elevar o balão para trasladar o líquido para o frasco e fechar novamente a pinça 3.

Ligar o tubo-filtro *a* ao motor por intermédio de um tubo de borracha e acionar o motor. O fluxo de ar deve ser de 300 a 400 cm<sup>3</sup>/min., mantido durante todo o tempo de incubação.

9. Observar o desenvolvimento da cultura, trasladando um pouco do líquido para o balão auxiliar, o que se consegue repetindo as operações dos itens 1, 2 e 3 (parte *b*). O líquido reflue pela pressão do motor. Em geral, são necessários de 10 a 15 dias para o desenvolvimento máximo da cultura.

c) *Colheita*

Desligar o motor, retirar o conjunto da estufa e colocar no balão auxiliar 0,7 g de Timerosal dissolvido em 200 ml de álcool etílico e transferi-lo para o frasco. Agitar e deixar em contacto algumas horas. Centrifugar conforme a técnica descrita por Rugai & Rugai.

## RESULTADO E DISCUSSÃO

A técnica descrita foi testada através de 8 partidas de 7 litros de meio cada, com produção média de 1,2 g de tripanossomos secos por partida.

A esterilização de todo o conjunto, inclusive do meio de cultura, o funcionamento em circuito fechado e a utilização do balão auxiliar reduzem ao mínimo as contaminações.

## RESUMO

Foi descrita uma técnica para cultura de *Trypanosoma cruzi* em grandes volumes, pelo borbulhamento contínuo de ar.

Cada partida de 7 litros produziu em média 1,2 g de tripanossomos secos.

A técnica pode ser adaptada a maiores volumes de meio de cultura permitindo a produção de tripanossomos em grande quantidade.

*Agradecimentos* — Agradecemos a colaboração do Dr. Augusto E. Taunay, Dr. Micio de Azevedo, Srs. Marcelina J. Citrângulo, José Brandão e Caetano Zamariolla.

