

## COMPORTAMENTO DAS CEPAS Y E PERUANA DO *TRYPANOSOMA CRUZI* NO CAMUNDONGO, APÓS PASSAGEM EM DIFERENTES MEIOS

JURACY B. MAGALHÃES, ALBÉLIA LIMA PONTES & SONIA G. ANDRADE

Com o objetivo de verificar se o comportamento morfológico e histopatológico de cepas do *Trypanosoma cruzi* é mantido após modificações no seu meio de manutenção e multiplicação, foram estudados oito grupos de infecção experimental em camundongos com as cepas Y e Peruana, após manutenção nas seguintes condições: cultura acelular em meio de Warren, criopreservação em Nitrogênio líquido durante trinta dias, passagem em triatomíneos e passagem em camundongos. Os parâmetros avaliados foram: parasitemia, mortalidade, sobrevivência, morfologia dos parasitos no sangue periférico, tropismo tissular e lesões histopatológicas. Tanto com a cepa Y como Peruana, cada grupo experimental foi dividido em dois subgrupos de acordo com a dose de inóculo, sendo um inoculado com 10.000 e outro com 50.000 formas tripomastigotas, menos o inoculado com formas de triatomíneos em que o inóculo foi apenas com 10.000 tripomastigotas. Observou-se na infecção pela cepa Y, retardo na evolução da parasitemia nos inoculados com formas de cultura e atenuação de virulência com o inóculo de 10.000 formas. Os caracteres básicos da cepa foram mantidos com predominância de macrofagotropismo na fase inicial da infecção e mitotropismo nas fases tardias, predominância de formas delgadas e elevada patogenicidade, com 100% de mortalidade embora com variação nos períodos de sobrevivência. Na infecção pela cepa Peruana observou-se também retardo da evolução da parasitemia com o inóculo de 10.000 formas provenientes de triatomíneos, de cultura e de criopreservação. Entretanto, as características morfológicas, o tropismo tissular e a patogenicidade foram mantidos.

Diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* caracterizadas de acordo com o seu comportamento morfológico (Andrade, Carvalho & Figueira, 1970; Andrade, 1973) e classificadas em Tipos (Andrade, 1973; Andrade, 1976) têm sido mantidas em laboratório por passagens sucessivas em camundongos com passagens intermediárias em triatomíneos, conservando as suas características básicas de comportamento durante a manutenção prolongada em laboratório desde que sejam mantidos constantes os inóculos e a idade do animal, observando-se modificações de virulência relacionadas com estes fatores. Por outro lado a passagem das diferentes cepas em camundongos de diferentes linhagens isogênicas reproduziu o comportamento básico das cepas, variando entretanto a virulência de acordo com a maior resistência da linhagem de camundongos empregada (Andrade, 1984). Estas observações parecem demonstrar que as diferenças intra-específicas das cepas comprovadas por estudos isoenzimáticos (Andrade, Brodskyn & Andrade, 1983) são estáveis para o mesmo animal de laboratório (camundongo) desde que conservadas as condições de experimentação.

O presente trabalho visa investigar a influência da manutenção em diferentes condições sobre o comportamento de cepas de *T. cruzi* em camundongos, no que diz respeito à virulência, patogenicidade, morfologia dos parasitos no sangue periférico, tropismo tissular e lesões histopatológicas. Para isto foram escolhidas as cepas Y e Peruana, cujo comportamento no animal experimental tem sido bastante estudado, as quais foram incluídas no Tipo I de acordo com as suas características morfológicas e histopatológicas (Andrade, 1973). No presente estudo as referidas cepas, obtidas de camundongos infectados, foram submetidas à passagem em meio de cultura acelular, submetidas à criopreservação, à passagem em triatomíneo e estudadas após inoculação em camundongos, comparando-se os resultados com os obtidos após inoculação de formas diretamente provenientes de camundongos. Procurar-se-á, desta maneira, verificar se as características são ou não mantidas após passagem em diferentes meios.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Cepas do *Trypanosoma cruzi*:** cepa Y (Silva & Nussenzweig, 1953; Andrade & Andrade, 1966) e cepa Peruana (Nussenzweig & Goble, 1966; Andrade, Carvalho & Figueira, 1970; Andrade, 1973), mantidas em laboratório por passagens sucessivas em camundongos com algumas passagens intermediárias em triatomíneos.

**Passagem em diferentes meios:** tripomastigotas sanguícolas das cepas Y e Peruana, obtidas de camundongos previamente inoculados com  $2 \times 10^5$  formas sanguícolas, foram passadas em: a) meio de Warren (1960); b) inoculadas em camundongos de 10 a 12 g.; c) conservadas por criopreservação por 30 dias em Nitrogênio líquido, de acordo com método de Dar, Lighthart & Wilson (1972) utilizando-se glicerina tamponada a 8% como criopreservante; d) para a passagem em triatomíneos, camundongos dos mesmos grupos de inoculação serviram para realização de xenodiagnósticos, utilizando-se caixas contendo cinco ninfas de *Rhodnius prolixus* num total de 100 a 150 ninfas.

**Grupos experimentais** (Tabelas I e II): o estudo do comportamento das cepas Y e Peruana após a passagem nos diferentes meios especificados, foi feito para cada cepa em quatro grupos experimentais de camundongos suíços "out bred" de 8 a 10 g. I: camundongos infectados com tripomastigotas provenientes de passagens em camundongos (controles); II: camundongos infectados com tripomastigotas sanguícolas, mantidos em criopreservação durante trinta dias; III: camundongos infectados com formas metacíclicas de cultura acelular (2º repique para a cepa Peruana e 4º repique para a cepa Y); IV: camundongos infectados com formas metacíclicas de triatomíneos, 45 dias após o xenodiagnóstico.

**Inóculos:** em cada grupo experimental foram feitos dois subgrupos de acordo com o inóculo: 10.000 e 50.000 tripomastigotas respectivamente, com exceção do grupo inoculado com formas provenientes de triatomíneos em que foi utilizado apenas o inóculo de 10.000 formas metacíclicas, (devido à dificuldade de obtenção de 50.000 metacíclicos). Os tripomastigotas sanguícolas provenientes de sangue citratado obtido diretamente do animal ou após a criopreservação foram separados dos elementos figurados do sangue por centrifugação a 350 g, durante 10 minutos e o sobrenadante contendo os parasitos foi centrifugado a 500 g com PBS pH 7.2 em três banhos.

Os parasitos provenientes de cultura em meio Warren foram separados do meio por centrifugação a 500 g por 10 minutos, sendo o sobrenadante desprezado e o depósito contendo formas amastigotas, epimastigotas e tripomastigotas foi submetido a lavagem com PBS pH 7.2, em três banhos. O inóculo foi ajustado para 10.000 a 50.000 formas metacíclicas por contagem das formas tripomastigotas em câmara de Neubauer, sendo o inóculo constituído pelo conjunto de todas as formas de cultura.

Os parasitos provenientes de triatomíneos foram separados dos detritos fecais por centrifugação a 350 g e filtração em algodão de vidro e o sobrenadante contendo os parasitos, submetido a nova centrifugação a 500 g em PBS pH 7.2, repetida três vezes. O cálculo do inóculo foi feito pela contagem em câmara de Neubauer das formas metacíclicas e o inóculo foi constituído pelas formas epimastigotas e tripomastigotas.

### Parâmetros considerados para estudo

**Parasitemia:** acompanhada desde o segundo dia de inoculação em cada grupo por contagem em 5 µl de sangue periférico obtido da cauda, entre lâmina e lamínula, em 50 campos microscópicos de 400 X, estabelecendo-se a curva de evolução da parasitemia.

**Morfologia dos parasitos no sangue periférico:** foi estudada em esfregaços de sangue periférico corado pelo método de Giemsa após fixação em metanol, pela contagem diária das formas largas e delgadas num total de 100 formas, com avaliação da percentagem das mesmas durante o curso da infecção.

**Histopatologia:** os animais de cada grupo foram sacrificados no 7º, 10º, 12º e 15º dias após inoculação, fixados em formol a 10% e, após inclusão em parafina obtidos cortes de 5 micra, corados pela Hematoxilina e Eosina para estudo histopatológico do coração, músculo esquelético, fígado e baço.

**Mortalidade:** foi avaliada pela percentagem de animais que morreram espontaneamente durante o curso da infecção. Foi também avaliado o período máximo de sobrevida em cada grupo.

## RESULTADOS

### I — Estudo da cepa Y

1 — **Evolução da parasitemia** (Figs. 1a, b): nos animais inoculados com tripomastigotas provenientes de camundongos, de criopreservação e de triatomíneos, observou-se rápida e precoce elevação dos níveis parasitêmicos após o 4º dia de infecção, atingindo o máximo no 10º dia nos inoculados com 10.000 tripomastigotas e no 8º dia nos que receberam inóculo de 50.000. Os animais inoculados com formas de cultura acelular, apresentaram parasitemia de evolução lenta, atingindo pique elevado entre o 16º e o 20º dia de infecção.

Dados relativos aos níveis de parasitemia, período máximo de sobrevida e mortalidade estão expressos na Tabela I.

2 — **Morfologia do parasito no sangue periférico** (Fig. 3a, b, c, d): em todos os grupos estudados as formas delgadas predominaram sobre as largas do 8º ao 11º dia de infecção e, após esta fase, houve equilíbrio entre as formas ou predominância das formas largas.

3 — **Mortalidade:** foram observados índices de mortalidade de 100% em todos os grupos com variação nos períodos de sobrevida (Tabela I).

4 — **Estudo histopatológico** (Tabela II — Figs. 6 e 7): em todos os grupos observou-se parasitismo de macrófagos do baço, fígado e tecido adiposo, que variou de discreto (+) a moderado (++) na infecção com 10.000 tripomastigotas e de discreto a acentuado (+++) na infecção com 50.000 formas. Em todos os grupos o parasitismo inicial ocorreu aos 7 dias com o inóculo de 50.000 formas e no 10º a 12º com o inóculo de 10.000 formas. Os graus mais acentuados de parasitismo de macrófagos foram vistos com a inoculação de 50.000 formas sanguícolas de camundongos (no 12º dia de infecção) ou de criopreservação (no 12º e 15º dia de infecção). O parasitismo de miocárdio e de músculo esquelético, em grau discreto foi visto no

10º dia de infecção nos animais inoculados com 10.000 formas sanguíneas de camundongos e em todos os grupos inoculados com 50.000 parasitos, variou de discreto a acentuado, acompanhado de processo inflamatório, com infiltrado mononuclear. A maior intensidade de parasitismo do miocárdio ocorreu com os inóculos provenientes de camundongos e culturas, aos quinze dias de infecção. Com a cepa Y a maior intensidade de parasitismo tissular e a menor sobrevida ocorreu com as formas sanguíneas de camundongos.

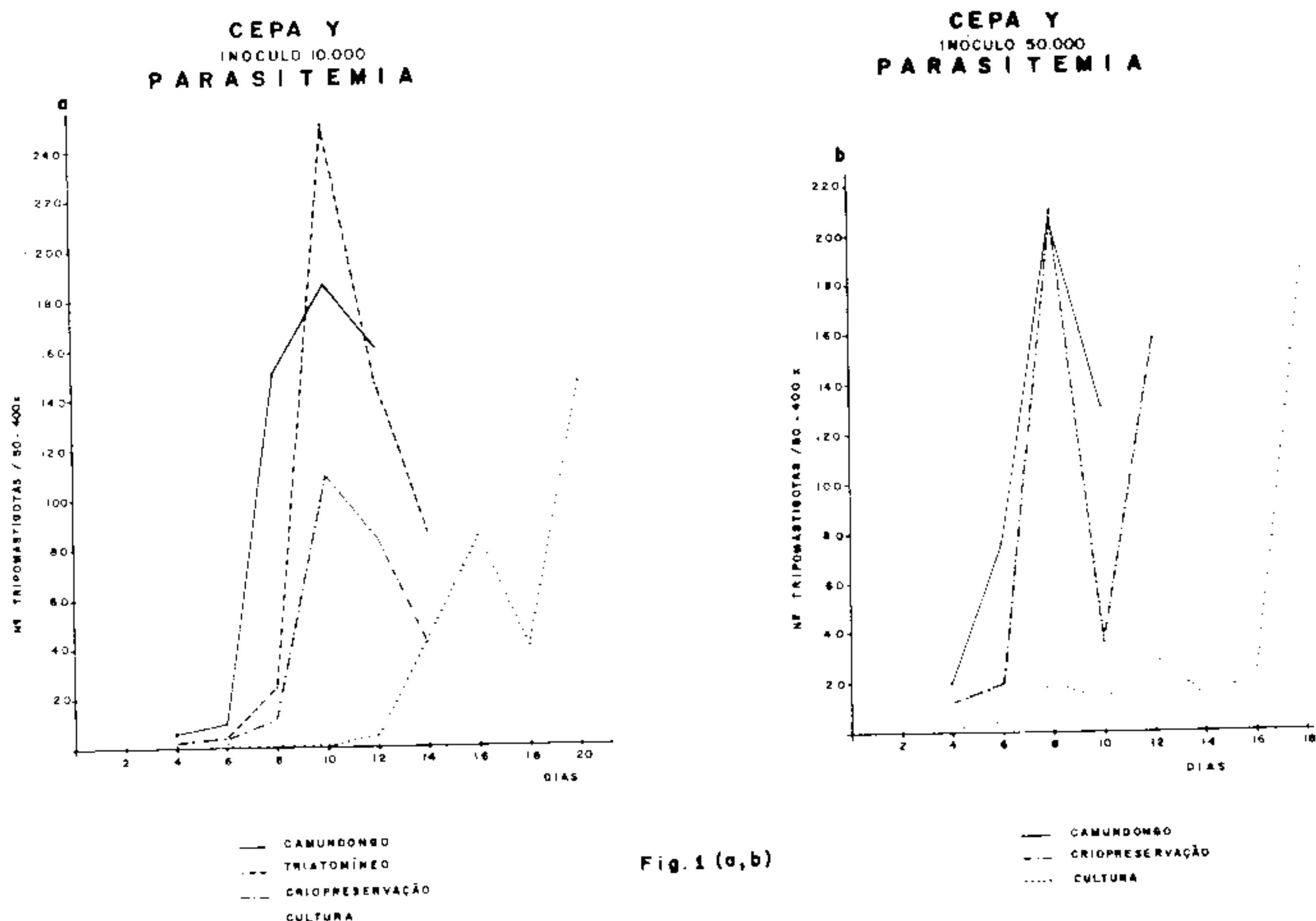


Fig. 1 (a, b)

Fig. 1: curvas de parasitemia em camundongos infectados com a cepa Y, com inóculo de 10.000 tripomastigotas (a) e de 50.000 (b), proveniente de diferentes meios.

TABELA I

Estudo do comportamento do *T. cruzi* em camundongos após passagem em diferentes meios – cepa Y

Grupos experimentais	Inóculos	Parasitemia máxima	Índice de mortalidade	Período máximo de sobrevida
(Inóculos provenientes)				
I. Camundongos	10.000	10º	100% de 13 a 14 dias	14 dias
	50.000	8º	100% de 10 a 12 dias	12 dias
II. Após criopreservação	10.000	10º	100% de 13 a 20 dias	20 dias
	50.000	8º	100% de 13 a 14 dias	14 dias
III. Cultura	10.000	20º	100% de 13 a 22 dias	22 dias
	50.000	18º	100% de 12 a 20 dias	20 dias
IV. Triatomíneos	10.000	10º	100% de 14 a 16 dias	16 dias

TABELA II

Distribuição do parasitismo tissular em camundongos infectados pelo *T. cruzi* – cepa Y após passagem em diferentes meios

Dias de infecção	Parasitismo tissular	Camundongos		Procedência do inóculo				Triatomíneos 10.000
				Criopreservação		Cultura		
				10.000	50.000	10.000	50.000	
7º dia	Macrófagos	--	++	--	+	--	+	--
	M. esquelético	--	--	--	--	--	--	--
	Miocárdio	--	--	--	--	--	--	--
10º dia	Macrófagos	+	++	+	+	--	+	+
	M. esquelético	+	+	--	+	--	+	--
	Miocárdio	--	+	--	+	--	+	--
12º dia	Macrófagos	++	+++	+	+++	+	++	+
	M. esquelético	++	++	+	+	--	+	--
	Miocárdio	++	++	+	+	--	+	--
15º dia	Macrófagos	+	*	++	+++	+	++	+
	M. esquelético	++	*	++	++	+	++	++
	Miocárdio	+++	*	+	+	+	+++	++

\* Não restam animais.

II — Estudo da cepa Peruana

1 — Evolução da parasitemia (Fig. 2a, b): nos animais inoculados com tripomastigotas provenientes do camundongo, foram observados piques máximos no 9º dia de infecção com posterior decréscimo, tanto com o inóculo de 10.000 como de 50.000 formas. O mesmo foi observado com o inóculo de 50.000 formas após criopreservação. Nos animais inoculados com 10.000 formas provenientes de triatomíneos, de cultura acelular e de criopreservação o pique de parasitemia ocorreu no 14º dia de infecção.

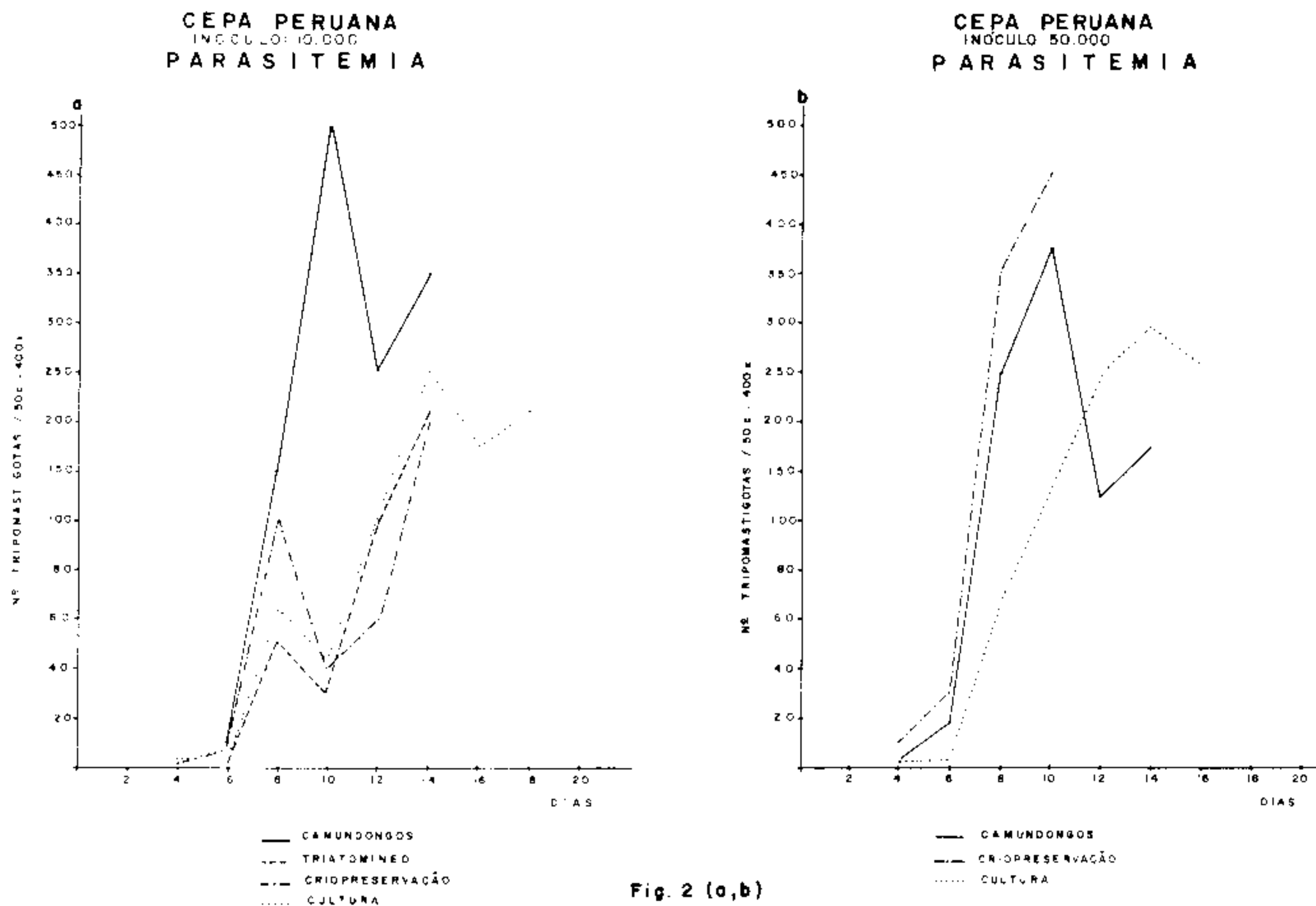


Fig. 2 (a,b)

Fig. 2: curvas de parasitemia de camundongos infectados com a *cepa Peruana* após passagem em diferentes meios, com inóculo de 10.000 e de 50.000 tripomastigotas (a, b).

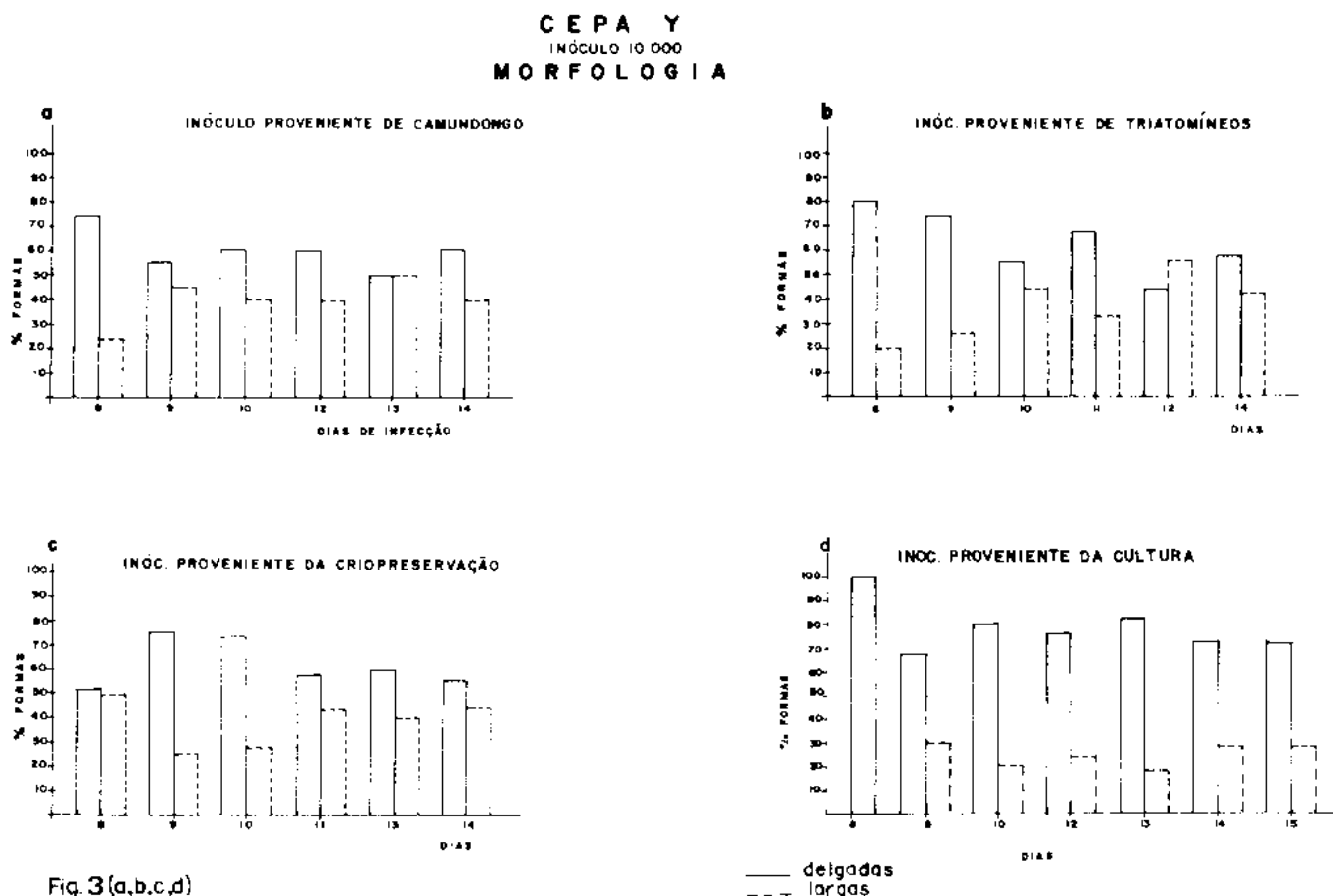


Fig. 3(a,b,c,d)

Fig. 3: estudo morfológico do *T. cruzi* no sangue periférico de camundongos inoculados com 10.000 tripomastigotas da *cepa Y* de diferentes procedências, demonstrando a percentagem de formas largas e delgadas no curso da infecção com predominância das formas delgadas.

Dados referentes às parasitemias, índices de mortalidade e período máximo de sobrevida, estão expressos na Tabela III.

TABELA III

Estudo do comportamento do *T. cruzi* em camundongos após passagem em diferentes meios – cepa Peruana

Grupos experimentais	Inóculos	Parasitemia máxima	Índice de mortalidade	Período máximo de sobrevida
(Inóculos provenientes)				
I. Camundongos	10.000	10 <sup>9</sup>	100% de 13 a 16 dias	16 dias
	50.000	10 <sup>9</sup>	100% de 09 a 16 dias	16 dias
II. Após criopreservação	10.000	14 <sup>9</sup>	100% de 12 a 14 dias	14 dias
	50.000	10 <sup>9</sup>	100% de 09 a 12 dias	12 dias
III. Cultura	10.000	14 <sup>9</sup>	100% de 12 a 20 dias	20 dias
	50.000	14 <sup>9</sup>	100% de 14 a 17 dias	17 dias
IV. Triatomíneos	10.000	14 <sup>9</sup>	100% de 08 a 16 dias	16 dias

2 – **Morfologia do parasito no sangue periférico** (Figs. 4a, b, c, d e 5a, b, c): em todos os grupos as formas delgadas predominam sobre as largas, do 7<sup>o</sup> ao 13<sup>o</sup> dia de infecção, tanto com o inóculo de 10.000 como de 50.000 formas, passando a predominar as formas largas a partir do 14<sup>o</sup> dia.

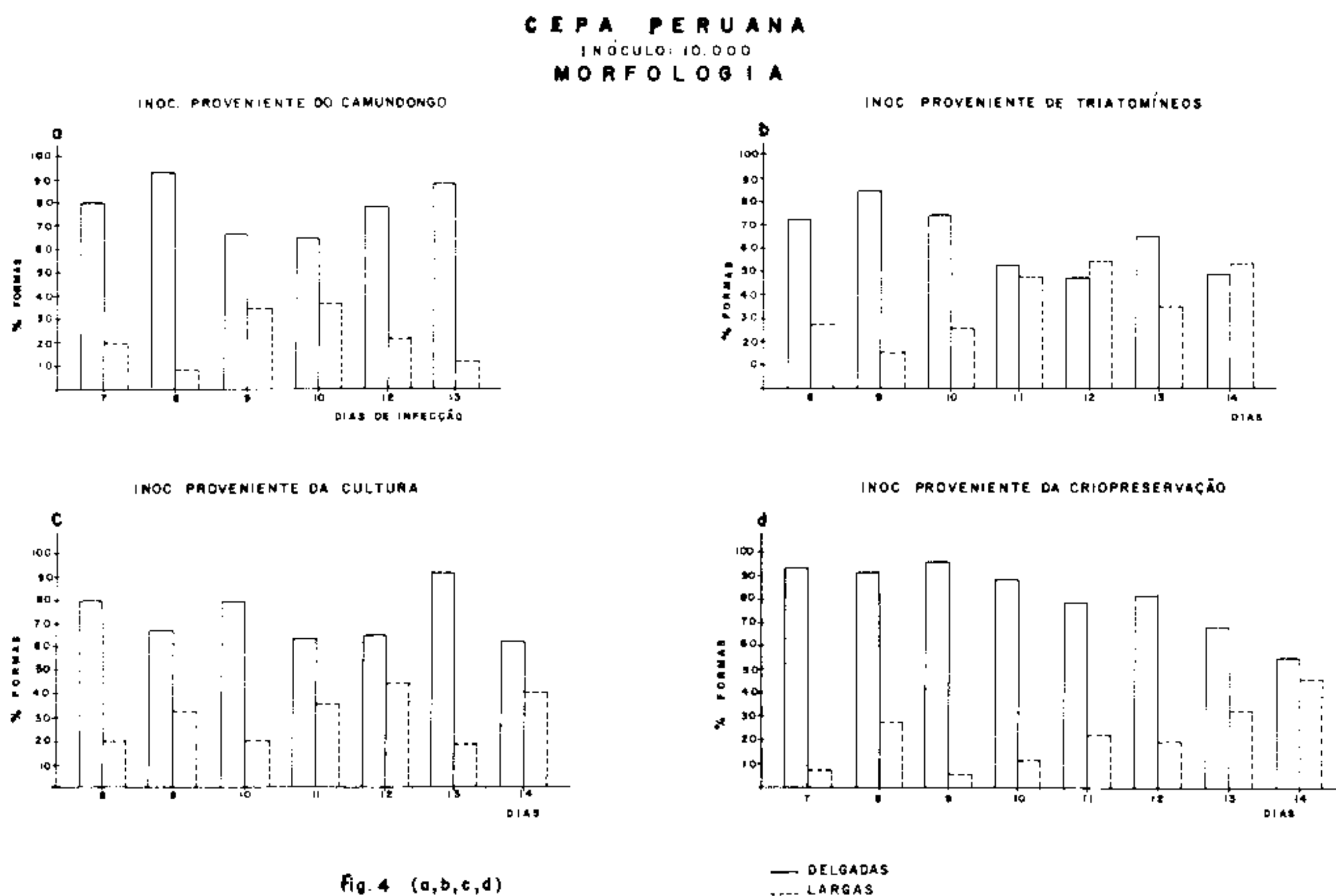


Fig. 4: estudo morfológico do *T. cruzi* no sangue periférico de camundongos infectados com a cepa Peruana (10.000 formas), após passagem em diferentes meios (a, b, c, d). Observar a predominância de formas delgadas em todos os grupos.

3 – **Mortalidade** (Tabela III): foram observados índices de mortalidade de 100% em todos os grupos, variando os períodos de sobrevida.

4 – **Estudo histopatológico** (Tabela IV): observou-se discreto parasitismo de macrófagos no 7<sup>o</sup> dia, excetuando-se os grupos inoculados com 10.000 formas de camundongos ou de triatomíneos, quando foi visto a partir do 10<sup>o</sup> dia. A intensidade de parasitismo de macrófagos variou de discreta (+) a acentuada (+++) com esta cepa sendo o grau mais acentuado visto com 50.000 formas de criopreservação aos doze dias e com formas de cultura aos quinze dias. O parasitismo de miocárdio e/ou músculo esquelético variou nos diversos grupos (Tabela IV) sendo mais acentuado a partir do 12<sup>o</sup> e 15<sup>o</sup> dias de infecção (Figs. 8 e 9).

Com a cepa Peruana a maior intensidade de parasitismo tissular e a menor sobrevida ocorreram com as formas de criopreservação.

**CEPA PERUANA**  
INÓCULO: 50.000  
**MORFOLOGIA**

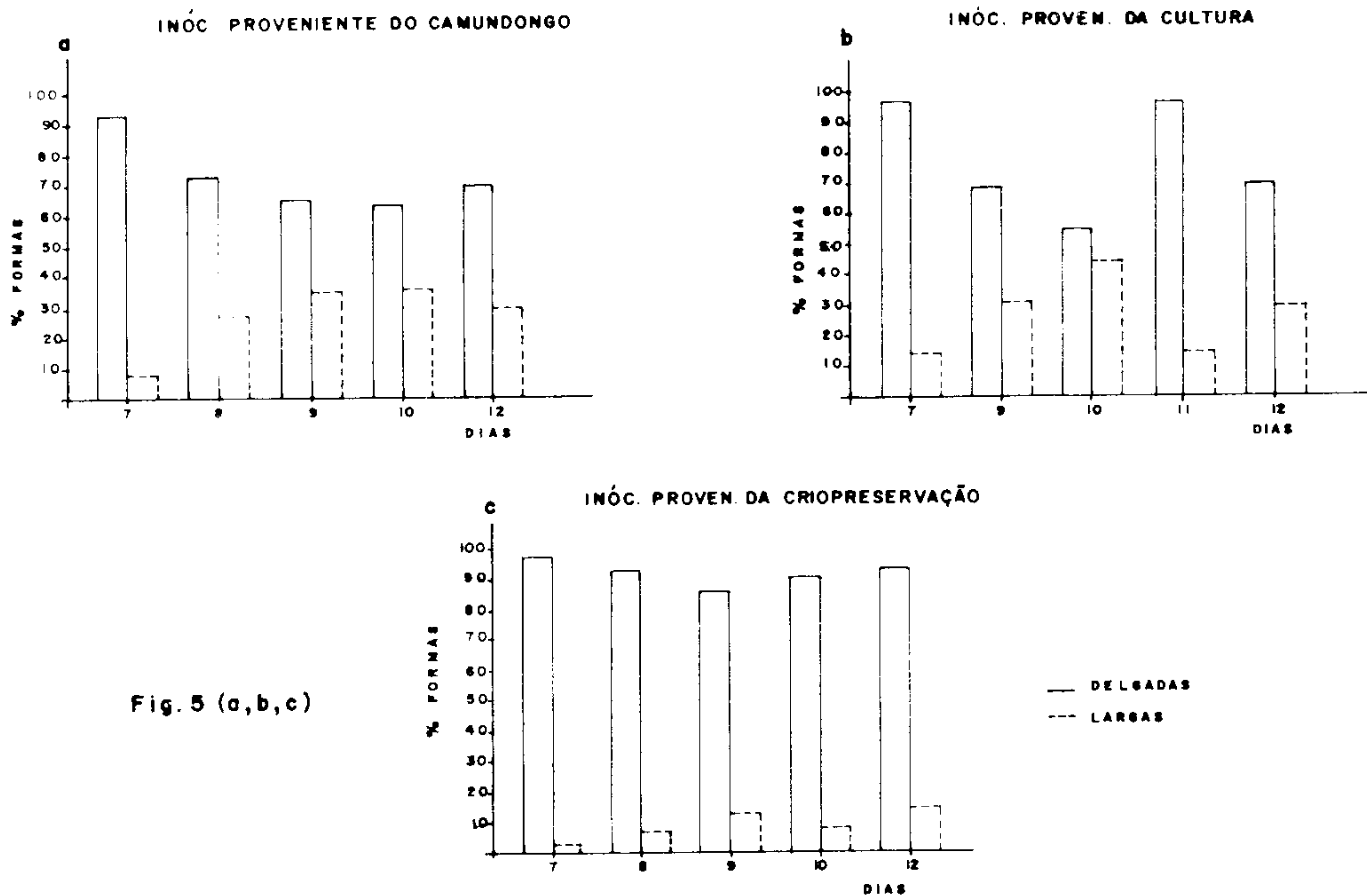


Fig. 5: estudo morfológico da *cepa Peruana* no sangue periférico de camundongos infectados com 50.000 tripomastigotas após passagem em diferentes meios (a, b, c, d). Observar a predominância de formas delgadas em todos os grupos.

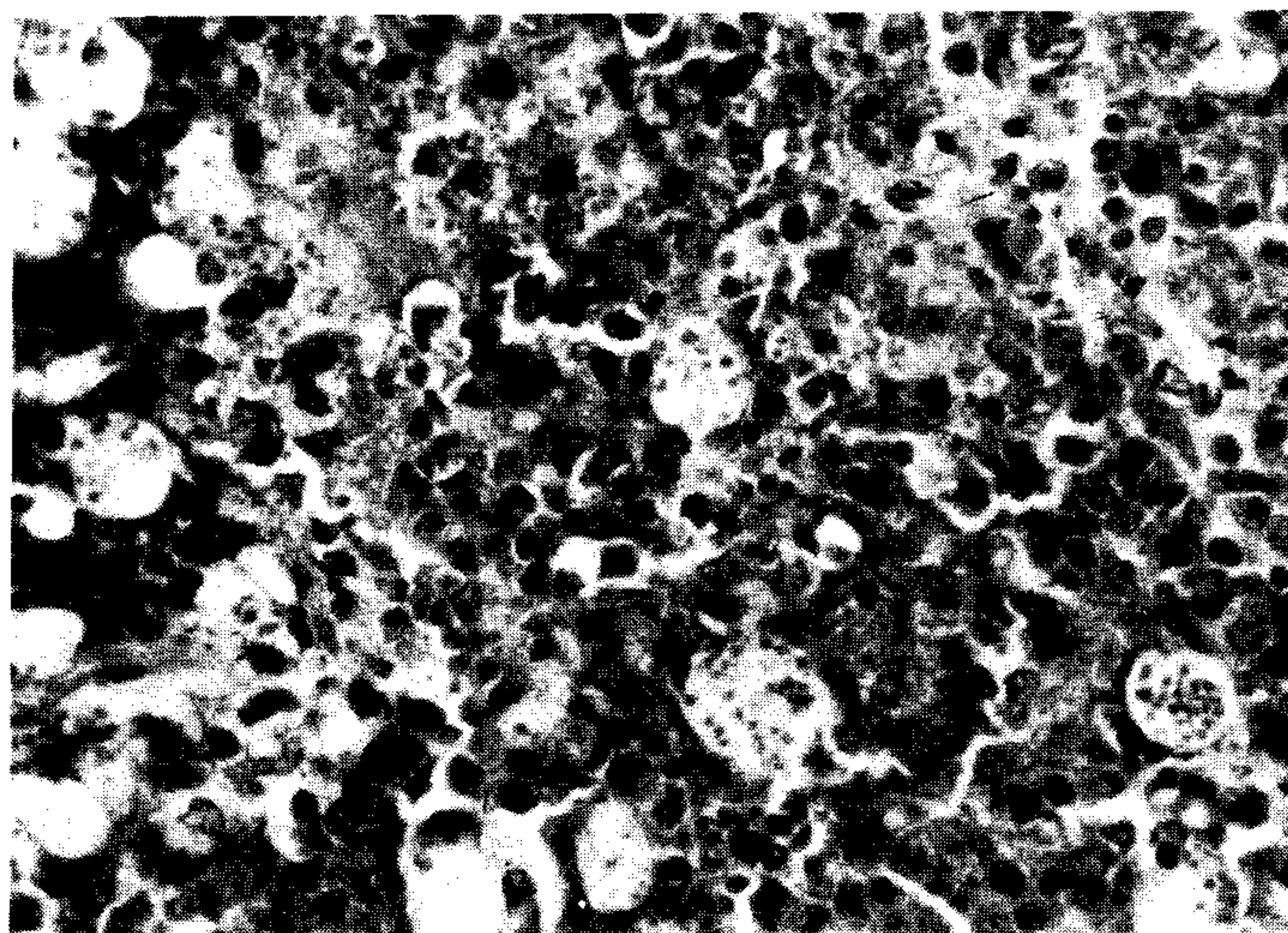


Fig. 6: aspecto histológico do baço em camundongo no 12º dia de infecção por 50.000 tripomastigotas de criopreservação, da *cepa Y*. Presença de numerosas formas amastigotas no interior de macrófagos na polpa vermelha. 400 X.

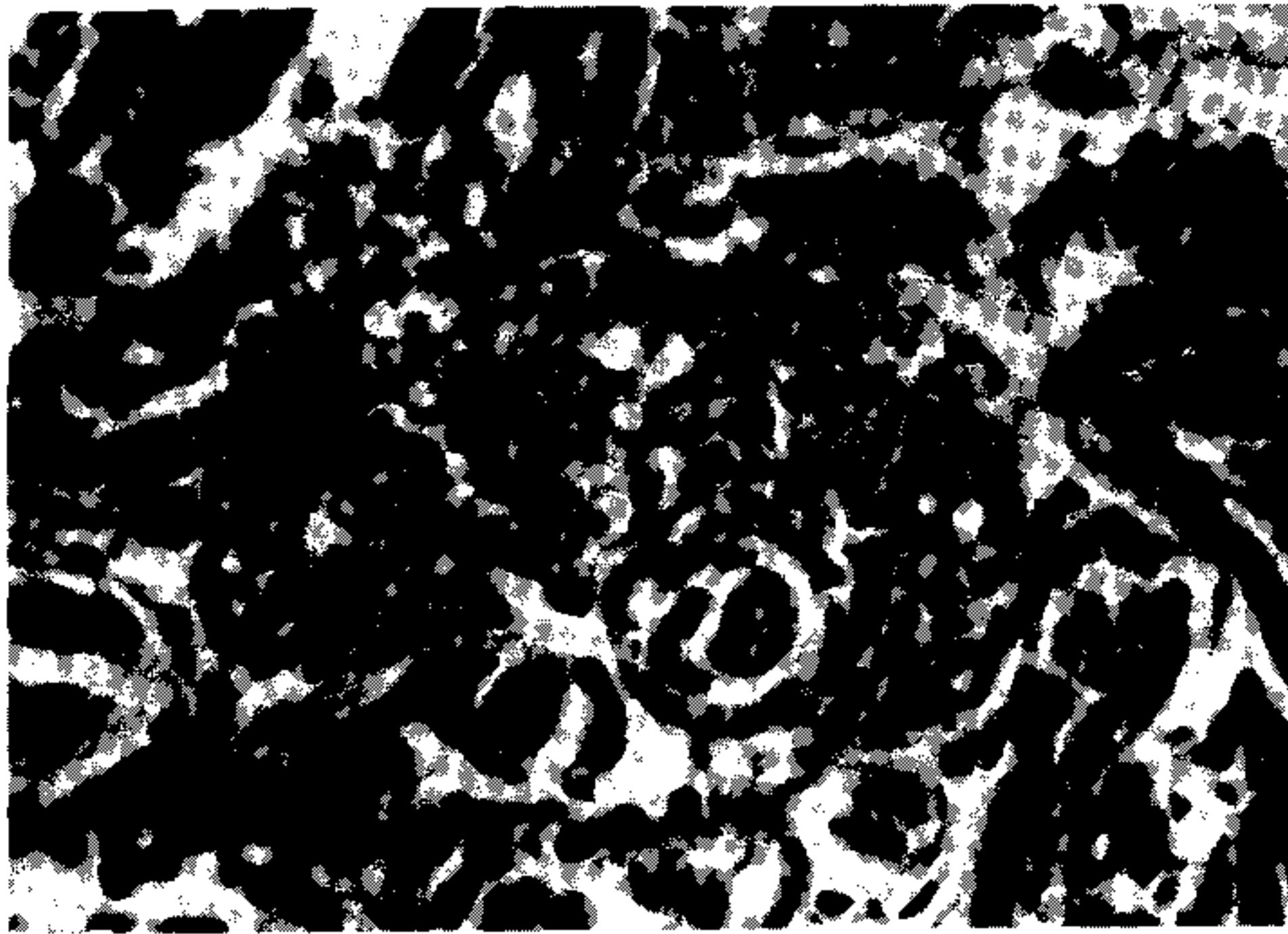


Fig. 7: área focal de destruição de fibra miocárdica observando-se restos parasitários, macrófagos e polimorfonucleares neutrófilos. *Cepa Y*, 15º dia de infecção com formas de cultura. 400 X.

TABELA IV

Distribuição do parasitismo tissular em camundongos infectados pelo *T. cruzi* – *cepa Peruana* após passagem em diferentes meios

Dias de infecção	Parasitismo tissular	Camundongos		Procedência do inóculo				Triatomíneos 10.000
				Criopreservação		Cultura		
				10.000	50.000	10.000	50.000	
7º dia	Macrófagos	--	+	+	+	+	+	--
	M. esquelético	--	--	--	--	--	--	--
	Miocárdio	--	--	--	+	--	--	--
10º dia	Macrófagos	+	++	+	++	+	++	+
	M. esquelético	--	--	+	+	--	--	--
	Miocárdio	--	+	+	+	--	--	--
12º dia	Macrófagos	+	++	++	+++	+	++	+
	M. esquelético	--	+	+	++	--	+	--
	Miocárdio	--	+	+	++	+	++	--
15º dia	Macrófagos	++	++	+	*	+	+++	++
	M. esquelético	+	++	+		++	++	+
	Miocárdio	+	+	+		+	++	+

\* Todos morreram (não examinados).

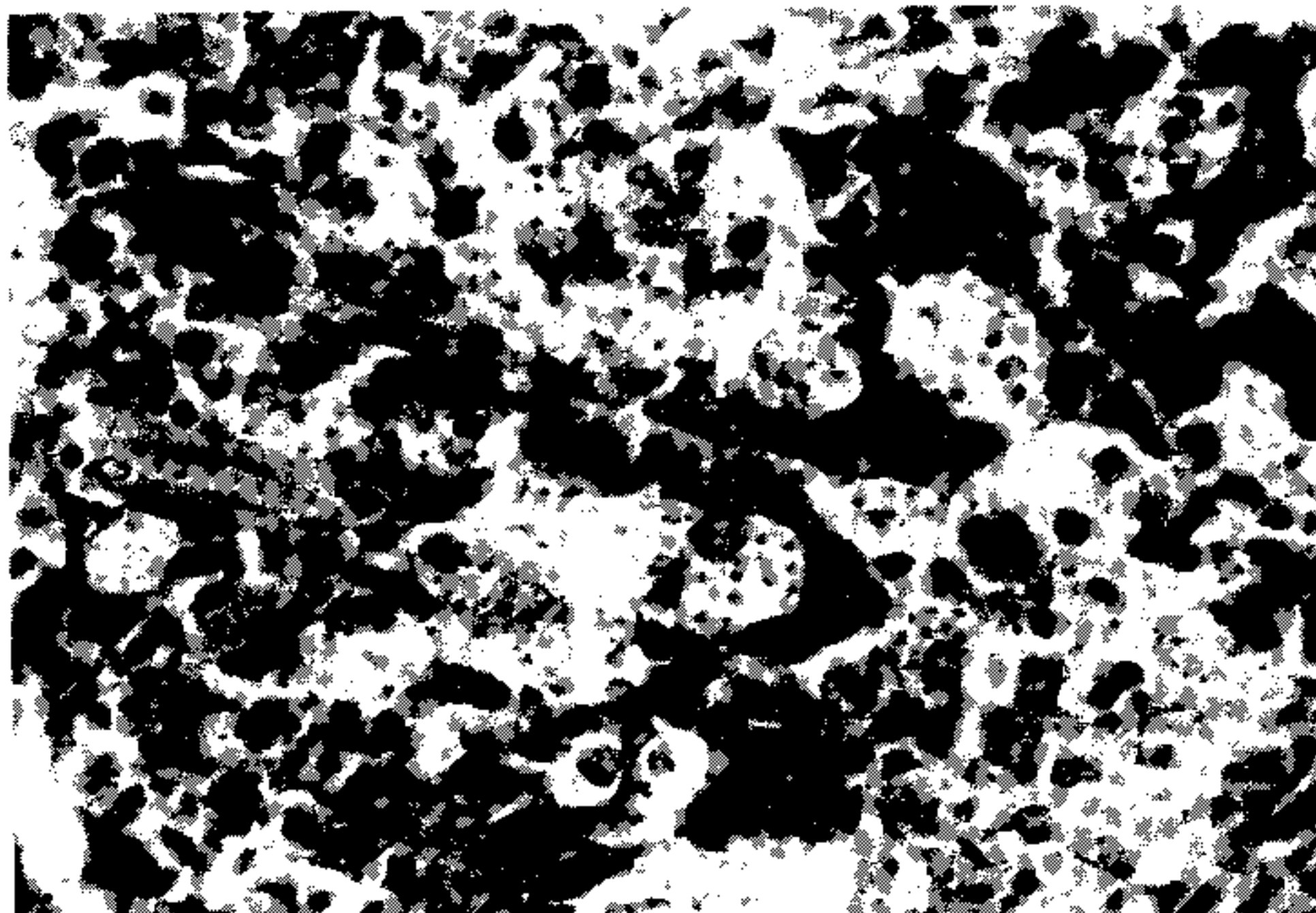


Fig. 8: acentuado parasitismo de macrófagos do baço em camundongo infectado com a *cepa Peruana* proveniente de criopreservação (12º dia de infecção). 400 X.

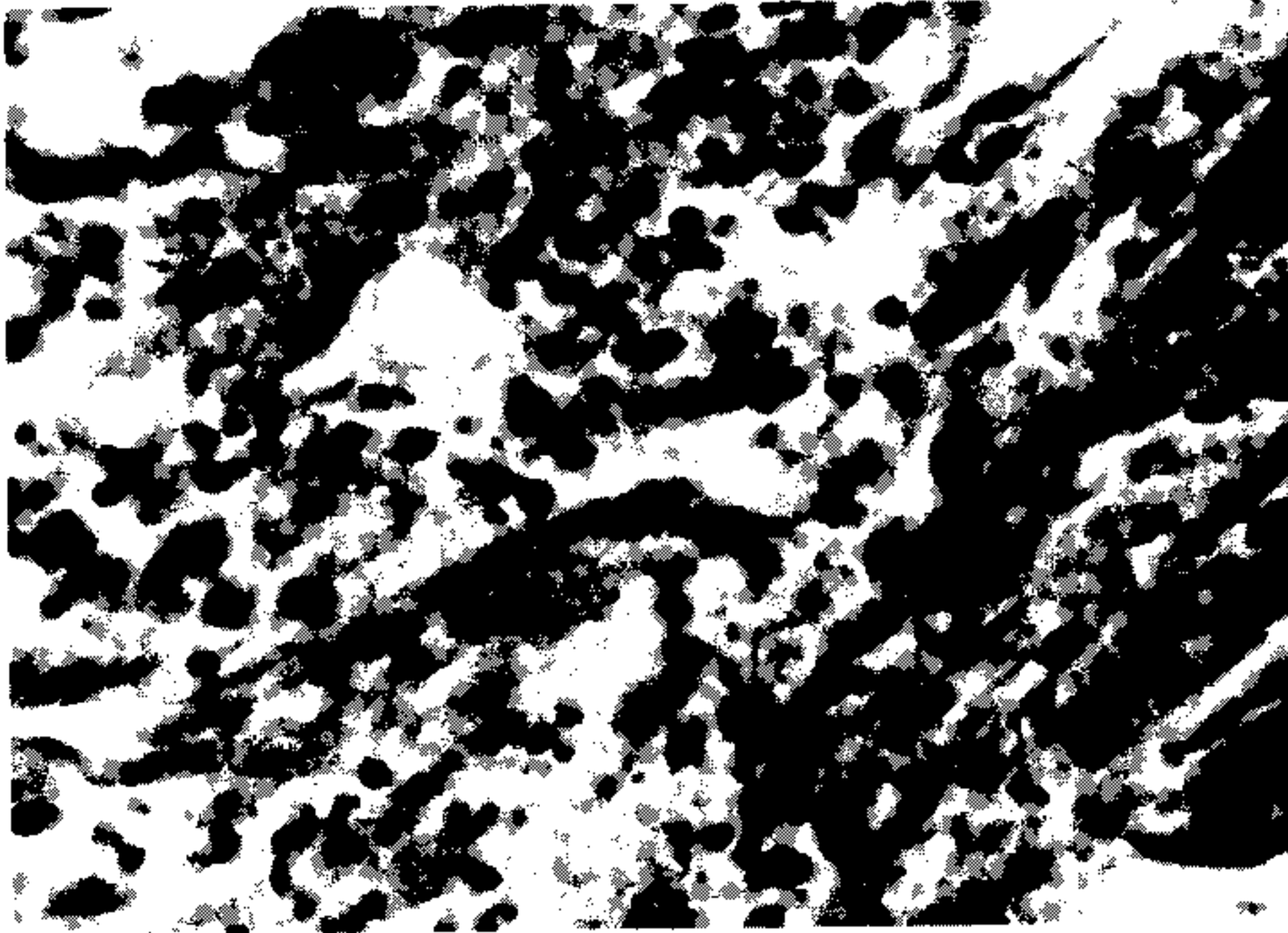


Fig. 9: fragmento de aurícula e tecido adiposo pericardíaco, observando-se acentuado parasitismo de miocárdio com destruição de fibras miocárdicas e difuso infiltrado mononuclear que atinge o tecido pericardíaco onde se vê macrófago parasitado (seta). (12º dia de infecção pela cepa *Peruana* proveniente de criopreservação). 400 X.

## COMENTÁRIOS

Virulência e patogenicidade são dois elementos importantes e dissociáveis no comportamento de cepas do *T. cruzi* (Andrade, 1974), sendo a virulência um fator até certo ponto variável e representativo da capacidade de multiplicação parasitária enquanto a patogenicidade é a capacidade da cepa de produzir lesões tissulares e levar à morte mesmo quando a virulência está atenuada, representando um caráter intrínseco da cepa.

As condições de manutenção em laboratório podem influenciar no grau de virulência de cepas do *T. cruzi*, principalmente quando se considera o fator idade do animal e a dose do inóculo. Tem sido também demonstrado que o estado imunológico do hospedeiro pode fazer variar o comportamento das cepas, determinando infecções mais ou menos graves, como foi visto em camundongos que sofreram bloqueios ou estimulação do sistema fagocítico mononuclear (Andrade, Silva & Andrade, 1967; Goble & Boyd, 1962; Andrade & Carvalho, 1969; Kierszenbaum et al., 1974). As modificações de virulência são pois, muitas vezes, dependentes de condições extrínsecas ao parasito, embora existam cepas naturalmente mais virulentas e outras com baixa virulência. Entretanto é importante se verificar se o comportamento básico relacionado à patogenicidade e aos caracteres morfológicos é flutuante. Ao se estudar o comportamento do *T. cruzi* no animal experimental, conservadas as condições básicas do hospedeiro, quanto à linhagem e à idade dos camundongos, padronizando-se os inóculos, pode-se tentar avaliar a influência dos meios de multiplicação e de manutenção no comportamento morfológico da cepa, levando-se em conta os índices de mortalidade, o tropismo tissular, o padrão da curva parasitêmica e a morfologia no sangue periférico.

No presente estudo, foram observadas diferenças nos níveis de parasitemia, após inoculação em camundongos, das cepas provenientes de diferentes meios, indicando assim uma alteração da sua virulência. Este fato estava ligado não apenas à passagem em diferentes meios como à dose do inóculo, observando-se nítida correlação entre o inóculo e a gravidade da infecção, independentemente do grupo experimental, sendo que, com o inóculo de 10.000 parasitos a infecção foi de baixa intensidade, com parasitismo tissular mais discreto e mais tardio do que com o inóculo de 50.000 formas, o que foi observado em todos os grupos experimentais. Além disto nota-se que as cepas Y e Peruana, quando utilizadas em trabalhos anteriores, com inóculos, muito elevados (Andrade, Carvalho & Figueira, 1970; Andrade & Andrade, 1966) determinaram mortalidade total dos animais entre nove e doze dias, enquanto que, no presente trabalho, permitiram sobrevida mais prolongada e determinaram menor grau de parasitismo tissular. Neal & Mc Hardy (1977), haviam também observado uma correlação entre a dose do inóculo e a taxa de mortalidade.

No presente trabalho, após passagem por cultura em dois a quatro repiques, as cepas Y e Peruana mostraram um retardo na multiplicação parasitária indicativo de diminuição da virulência porém com conservação de sua patogenicidade, traduzida pela presença de lesões tissulares idênticas aos demais grupos, com macrófago tropismo predominante e acentuadas lesões de músculo esquelético e miocárdio nas fases adiantadas de infecção, determinando 100% de mortalidade.

A influência da passagem em diferentes meios tem sido estudada por diversos autores (Carvalho & Collares, 1965; Neal & Mc Hardy, 1977; Tay, Salazar-Schettino & Ontiveros, 1969; Marsden & Hagstrom, 1968) bem como a influência sobre a infecção, das passagens por períodos prolongados em meios de cultura acelulares (Chiari, 1974; Segura et al., 1980). Rosenberg, Marsden & Pettitt, (1968) obtiveram pouca dife-



rença na infectividade dos flagelados provenientes de culturas, de 14 a 21 dias da cepa Peruana, verificando que a percentagem de animais infectados era de 100% com o inóculo de  $10^5$  parasitos, enquanto abaixo desta dose, o número de camundongos infectados estava relacionado com o número de parasitos inoculados. A virulência do *T. cruzi* mostra-se atenuada após período prolongado de manutenção em cultura (Segura et al., 1980), embora tenha sido comprovada a capacidade infectante após passagens contínuas em cultura por muito tempo (Chiari, 1974; Packchianian & Sweets Jr., 1943) observaram Carvalho & Collares (1965) que a cepa Y, após uma passagem em *T. infestans* não sofreu diminuição de virulência com altas parasitemias e elevada mortalidade apresentando, entretanto diminuição do viscerotropismo, inclusive do reticulotropismo. Tay et al. (1969) observaram menores parasitemias e menor viscerotropismo quando foram feitas passagens em triatomíneo. Neal & Mc Hardy (1977), também concluíram que as formas sanguícolas são significativamente mais virulentas do que as metacíclicas derivadas de triatomíneos. Em nosso material as passagens em triatomíneo não alteram o comportamento da cepa e, embora estudada apenas com o inóculo de 10.000 formas, os resultados obtidos não diferiram do grupo controle, inoculado com o mesmo número de formas provenientes do camundongo.

As formas sanguícolas diretamente obtidas de camundongos ou após manutenção em criopreservação, se mostraram as mais virulentas e patogênicas sendo válido acentuar a manutenção da infectividade após a criopreservação, fato já assinalado por Fillardi & Brener (1975).

Apesar do retardo na evolução da parasitemia das formas provenientes de cultura, da cepa Y e das formas de criopreservação, triatomíneo e cultura da cepa Peruana, as demais características foram mantidas, observando-se piques precoces, alta mortalidade, macrofagotropismo predominante e predominância de formas delgadas em todos os grupos.

Deste modo podemos concluir que o padrão básico de comportamento das cepas Y e Peruana no camundongo foi mantido após passagem em cultura, em triatomíneos e em criopreservação. As variações observadas foram atribuídas a uma atenuação da virulência por passagens em cultura e/ou pela utilização de inóculos baixos.

O comportamento das formas sanguícolas, diretamente isoladas do camundongo ou após criopreservação mostra que a multiplicação no camundongo é maior quando a cepa já está adaptada a este hospedeiro, mesmo quando submetida à criopreservação.

## SUMMARY

The behavior of two strains of *Trypanosoma cruzi* (Y and Peruvian strains) in experimental mouse infection, after being passed through different conditions of maintenance and cultivation was studied. The conditions were: Warren's acellular culture medium, cryopreservation in liquid Nitrogen, passage through the insect vector and direct blood passage from mice to mice.

The parameters considered for comparative study were as follows: parasitemia, mortality rate, maximum survival time, morphology of parasites in peripheral blood, tissue tropism and histopathological lesions. Each experimental group consisted of two sub-groups according to the inocula: 10.000 or 50.000 trypomastigotes. The basic characteristics of the strains remained unchanged. These were macrophagotropism, predominance of slender forms of the parasite in early infection and 100 per cent mortality rate in the acute phase of the infection. However, decrease in the virulence was observed when the culture forms were used or when the infection with low inoculum was used (10.000 forms). Therefore the main biological characteristics of the strains tended to remain the same, regardless of the conditions used for maintenance and cultivation.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S.G., 1974. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas no Recôncavo baiano (contribuição ao estudo da patologia geral da doença de Chagas em nosso meio). *Rev. Pat. trop.*, 3 :65-121.
- ANDRADE, S.G., 1976. Tentative for grouping different *Trypanosoma cruzi* strains in some types. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 18 (2) :140-142.
- ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A., 1966. Estudo histopatológico comparativo das lesões produzidas por duas cepas do *Trypanosoma cruzi*. *Hospital*, 70 (5) :1267-1278.
- ANDRADE, S.G. & CARVALHO, M.L., 1969. Efeito da excitação do Sistema Retículo-Endotelial pelo Adjuvante de Freund, na doença de Chagas experimental. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 11 (4) :229-235.
- ANDRADE, S.G.; CARVALHO, M.L. & FIGUEIRA, R.M., 1970. Caracterização morfológica e histopatológica de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. *Gaz. méd. Bahia*, 70 (1) :32-42.
- ANDRADE, S.G.; SILVA, A.A. & ANDRADE, Z.A., 1967. Bloqueio e estimulação do S.R.E. na doença de Chagas (estudo experimental em camundongos). *Gaz. méd. Bahia*, 67 (1) :19-30.
- ANDRADE, V., 1984. Comportamento de diferentes linhagens de camundongos "inbred" frente à infecção por três diferentes cepas do *T. cruzi*. XX Congresso da Soc. Bras. Medicina Tropical & I Congresso da Soc. Lat. Amer. de Medicina Tropical. Salvador, 5 a 9 fevereiro.
- ANDRADE, V.; BRODSKYN, C. & ANDRADE, S.G., 1983. Correlation between isoenzyme patterns and biological behaviour of different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 77 (6) :796-799.

- CARVALHEIRO, J.R. & COLLARES, E.F., 1965. Estudos sobre o comportamento em camundongos de uma amostra altamente virulenta de *Trypanosoma cruzi* (amostra Y), após passagens em triatomíneos, ratos e culturas. *Rev. Bras. Biol.*, 25 (2) :169-175.
- CHIARI, E., 1974. Infectivity of *Trypanosoma cruzi* metacyclic trypomastigotes from cultures kept in laboratory for different periods of time. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 16 (2) :61-67.
- TAY, J.; SALAZAR-SCHETTINO, P.M. & ONTIVEROS, D., 1969. El comportamiento en el ratón blanco de una cepa de *Trypanosoma cruzi* mediante fases sucesivas en diferentes especies de triatomas. *Rev. Lat. Amer. Microbiol. Parasitol.*, 11 :79-89.
- WARREN, L.G., 1960. Metabolism of *Schizotrypanum cruzi* Chagas. I. Effect of culture age and substrate concentration on respiratory rate. *J. Parasitol.*, 46 (5) :224-230.