



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Utilização de Ovos Embrionados SPF para a Avaliação da Patogenicidade de Isolados de Pasteurella multocida de Origem Aviária e Suína
Autor	CAMILA NEVES DE ALMEIDA
Orientador	HAMILTON LUIZ DE SOUZA MORAES

Agente causador de diversas patologias veterinárias em diferentes espécies animais, incluindo-se a Cólera Aviária (CA), a bactéria *Pasteurella multocida* tem se destacado no cenário mundial pelas grandes perdas econômicas que causa no setor agropecuário. As inoculações experimentais em camundongos e aves têm sido comumente empregadas para o diagnóstico de CA ou para a classificação da patogenicidade dos isolados de *P. multocida*. Contudo, estes modelos apresentam taxas de reisolamento bacteriano variáveis e são métodos laboriosos, além de serem inviáveis para a análise de um grande número de cepas. Buscando alternativas para auxiliar o diagnóstico de CA e melhorar as tecnologias já existentes, o presente estudo avaliou a utilização de ovos embrionados como modelo experimental através de dois ensaios. No primeiro experimento, foi analisada a capacidade de multiplicação das cepas através da observação das lesões presentes nos embriões de ovos SPF inoculados com cepas de campo e através do percentual de reisolamento bacteriano obtido. Em um segundo experimento, objetivou-se determinar a dose letal que provoca a morte de 50% dos embriões (DL₅₀) de ovos de galinha SPF. Para a execução de ambos os estudos, culturas puras de *P. multocida* previamente estocadas a -70°C foram cultivadas em caldo cérebro coração (BHI) por 24 horas a 37°C em estufa bacteriológica. Após este período, foi realizada a contagem bacteriana através da metodologia da gota, obtendo-se um inóculo com 10⁸ UFC/mL. No primeiro experimento, 32 amostras de *P. multocida* originárias de aves e de suínos provenientes de casos clínicos de CA e de abatedouros frigoríficos, respectivamente, foram cultivadas em BHI por 24 horas. Uma alíquota de 0,1 mL da solução contendo 10⁸ UFC/mL de cada amostra foi inoculada através da cavidade cório-alantóide em 5 ovos SPF, totalizando-se 160 ovos. A viabilidade embrionária foi avaliada em intervalos de 12 horas de incubação durante sete dias. Após este período, os embriões que sobreviveram foram eutanasiados por congelamento conforme legislação vigente. Todos os embriões foram necropsiados para verificação da presença de alterações macroscópicas e coletou-se um fragmento de coração e fígado para isolamento bacteriológico. As lesões avaliadas foram: presença de embrião hemorrágico, congestão do folículo da pena e congestão hepática. A mortalidade total durante o período de observação foi de 90,62%, sendo que 71,25% dos embriões morreram nas primeiras 24 horas. Do total de ovos inoculados, 88,75% apresentaram embriões hemorrágicos. O percentual de reisolamento bacteriano obtido foi de 94,37%. Para o segundo estudo, três amostras isoladas de casos de CA foram selecionadas e cultivadas em BHI por 24 horas a 37°C, obtendo-se soluções com 10⁸ UFC/mL. Foi realizada a diluição seriada de cada uma das cepas até 10⁻⁸. O volume de 0,1 mL de cada diluição foi inoculado em seis ovos SPF através da cavidade cório-alantóide e a viabilidade embrionária avaliada em intervalos de 12 horas de incubação durante sete dias. Observadas as mortalidades e lesões, a DL₅₀ de cada amostra foi calculada. As cepas 01 e 02 apresentaram um título de 10^{6,2} (DL₅₀) e 10^{6,35} (DL₅₀), respectivamente, representando aproximadamente 10² UFC/mL de *P. multocida*. O título da cepa 03 foi de 10^{5,47} (DL₅₀), correspondendo à aproximadamente 10³ UFC/mL. A utilização de ovos embrionados de galinha SPF é uma alternativa para o emprego como modelo experimental, pois se obteve altos percentuais de reisolamento de uma bactéria geralmente fastidiosa e foram observadas lesões e mortalidades em períodos distintos que permitem classificar a patogenicidade dos isolados de *P. multocida*.