

## RESUMO

### **Haemophilus parasuis: heterogeneidade na relação densidade ótica e número de células entre os sorotipos de referência.**

**AUTOR PRINCIPAL:**

João Antônio Guizzo

**E-MAIL:**

[joaoguizzo@hotmail.com](mailto:joaoguizzo@hotmail.com)

**TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::**

Pibic CNPq

**CO-AUTORES:**

Monique Salete Lorenson, Rafael Pandolfi, Luiz Carlos Kreutz

**ORIENTADOR:**

Rafael Frandoloso

**ÁREA:**

Ciências Agrárias

**ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:**

Doenças Infecciosas de Animais

**UNIVERSIDADE:**

Universidade de Passo Fundo

**INTRODUÇÃO:**

*Haemophilus parasuis* é um pequeno e pleomórfico bacilo Gram negativo com tropismo pelo trato respiratório de suínos. Seu cultivo in vitro é fastidioso e requer a presença do fator V da coagulação do sangue (NAD). Infecções in vivo resulta no desenvolvimento da doença de Glässer, uma patologia clínica caracterizada por poliartrite, poliserosite e meningite em suínos jovens (Frandoloso, et al., 2011). Atualmente, existem 15 sorotipos de referência de *H. parasuis*, e cada um, possui particularidades em relação ao tamanho, forma e virulência (Kielstein & Rapp-Gabrielson, 1992). Levando em consideração estas características, buscamos neste estudo, determinar a relação densidade óptica (DO) e unidades formadoras de colônias (UFC) dos diferentes sorotipos de referência de *H. parasuis*, cultivados em meio líquido.

**METODOLOGIA:**

A partir dos estoques bacterianos de referência de *H. parasuis* (sorotipos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, e 15), semearam-se placas de ágar chocolate suplementadas com NAD e glicose. Os cultivos foram incubados a 37°C durante 24 horas, em jarras de anaerobiose. A continuação, colônias de cada sorotipo foram inoculadas em caldo PPLO suplementado, até alcançar uma DO inicial de 0.01, medida a 600nm. Em seguida, os cultivos foram mantidos em agitação até alcançarem uma DO de 0.7 e imediatamente, foram centrifugados. O sedimento bacteriano obtido foi ressuspensionado em caldo PPLO sem suplemento e, esta suspensão, foi utilizada para ajustar as densidades óticas desejadas (0.1, 0.2, 0.3, 0.4 e 0.5). De cada DO, retirou-se uma alíquota de 100l para realizar diluições seriadas (1:10) em caldo PPLO. Posteriormente, 100l de cada diluição foram semeados em placas de ágar chocolate e incubados como descrito anteriormente. Após a incubação, realizou-se contagem das UFC resultantes.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES:

*H. parasuis* é um dos principais patógenos respiratório bacteriano que acomete suínos. Estudos relacionados com os fatores de virulência desse microrganismo e sua patogenia no hospedeiro natural são crescentes, e todos em conjunto, buscam, esclarecer a considerável lacuna de desconhecimento acerca desse patógeno. Aqui, colocamos de manifesto que todos os sorotipos de referência *H. parasuis* apresentam um padrão singular de crescimento (tempo de cultivo necessário para atingir a DO desejada), e também, a existência de uma relação densidade óptica e respectivo número de unidades formadoras de colônias, específico para cada sorotipo, conforme representado na figura 1. Estes resultados podem estar relacionados com as diferenças morfológicas existentes entre os sorotipos (Morozumi, et al., 1982), como também, pelo potencial de agregação de cada sorotipo durante o seu cultivo em meio líquido. Em conjunto, nossos resultados demonstram a importância de se estabelecer a relação DO/UFC de cada sorotipo de *H. parasuis*, sempre e quando, se pretenda realizar experimentos de infecção in vivo, in vitro, imunizações (bacterinas) ou diagnósticos envolvendo os diferentes sorotipos desse microrganismo.

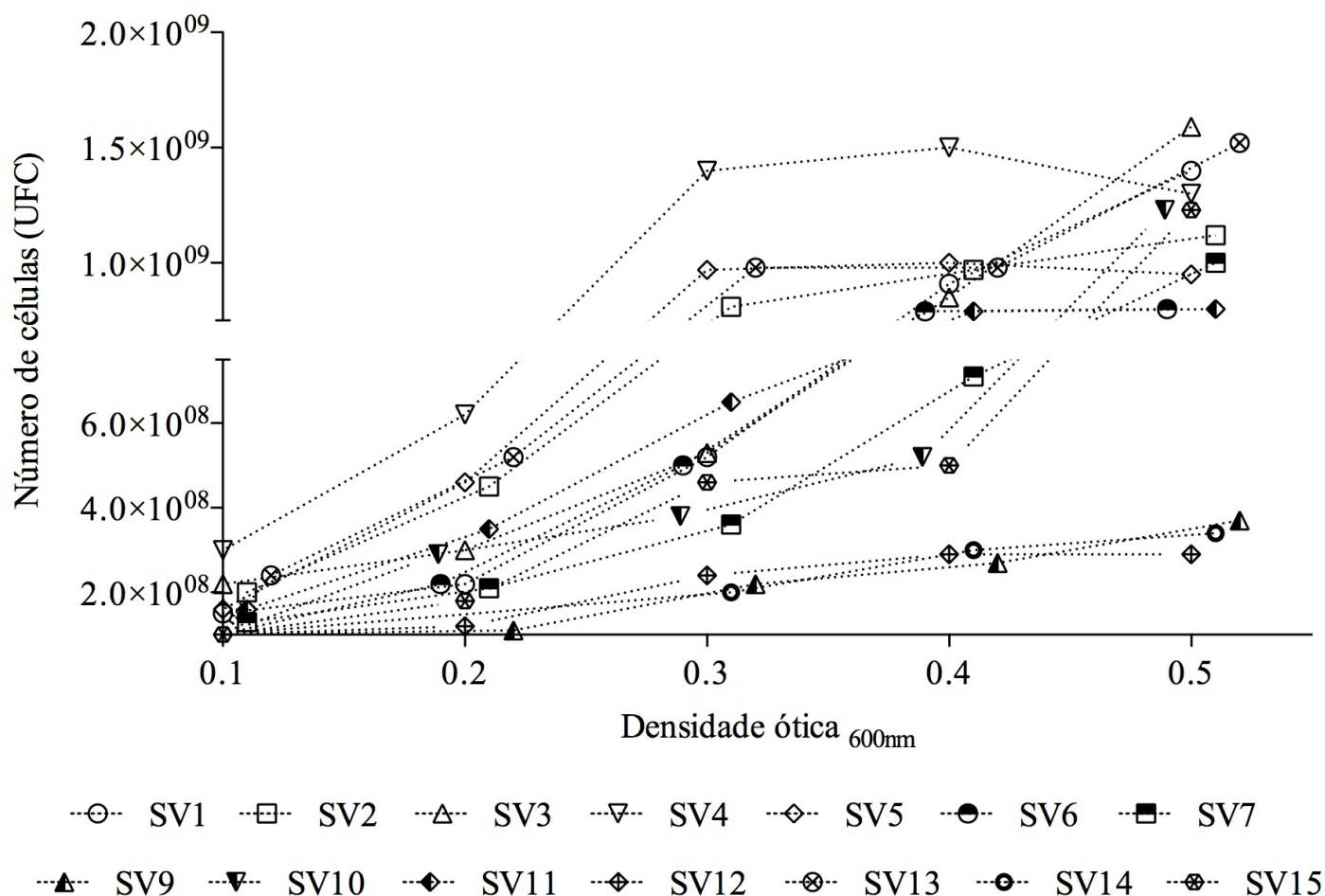
## CONCLUSÃO:

Todos os sorotipo de referência de *H. parasuis* incluídos neste estudo, apresentam uma cinética de crescimento e rendimento bacteriano específico. Tornando-se evidente, a impossibilidade de escolher um único sorotipo de referência para definir a relação DO/UFC de outros sorotipos, mesmo que eles pertençam a uma mesma espécie bacteriana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Frndoloso R., Martínez S., Rodríguez-Ferri E.F., Garcia-Iglesias M.J., Perez-Martínez C., Martínez-Fernández B. & Gutiérrez-Martín C.B. (2011). Clin Vaccine Immunol 18: 50-58.  
Kielstein P. & Rapp-Gabrielson V.J. (1992). J Clin Microbiol 30: 862-865.  
Morozumi T., Hiramune T. & Kobayashi K. (1982). Natl Inst Anim Health Q (Tokyo) 22: 23-31.

## INSIRA ARQUIVO.IMAGEM - SE HOUVER:



Assinatura do aluno

Assinatura do orientador