



XXIV
Mostra
de Iniciação
Científica

SEMANA DO
CONHECIMENTO

A Universidade em movimento

De **7 a 10** de outubro de 2014



RESUMO

Padronização da técnica de hemaglutinação indireta modificada (HIm) para a sorotipificação de Haemophilus parasuis

AUTOR PRINCIPAL:

Aislan Henrique Rissi Brizskievicz

E-MAIL:

aislanrissi@yahoo.com.br

TRABALHO VINCULADO À BOLSA DE IC::

Probic Fapergs

CO-AUTORES:

Monique Salete Lorenson, João Antônio Guizzo, Michela Miani, Luiz Carlos Kreutz, Sonia Martínez-Martínez, César Bernardo Gutiérrez-Martín, Elías Fernando Rodríguez-Ferri e Rafael Frandoloso

ORIENTADOR:

Rafael Frandoloso

ÁREA:

Ciências Agrárias

ÁREA DO CONHECIMENTO DO CNPQ:

5.05.02.00-0 Medicina Veterinária Preventiva

UNIVERSIDADE:

Universidade de Passo Funso

INTRODUÇÃO:

Haemophilus parasuis (HPS), é um bacilo Gram-negativo, normalmente encontrado no trato respiratório superior de suínos. Fenotipicamente, HPS pode ser classificado em 15 sorotipos, com diferentes graus de virulência, e, tradicionalmente, sorotipos virulentos estão associados com a Doença de Glässer. A sorotipificação de HPS pode ser realizada mediante dois métodos, o primeiro, baseia-se na imunodifusão em gel de antígenos autoclavados (1); o segundo é o teste de hemaglutinação indireta (2). Apesar de possuir uma classificação fenotípica definida, um número considerável de isolados clínicos não podem ser sorotipificados mediante os métodos sorológicos tradicionais, indicando a existência de mais do que 15 sorotipos. Neste trabalho, propomos uma modificação na técnica de hemaglutinação indireta (HIm) utilizada para a sorotipificação de isolados clínicos de H. parasuis.

METODOLOGIA:

Para a padronização da técnica de HIm, hemácias de cordeiro foram tratadas com ácido tânico, e, para a adsorção dos antígenos de *H. parasuis* na superfície das hemácias, o antígeno foi diluído 1:5 em solução salina 0,9% (SA). Para cada 1 ml de antígeno diluído, adicionou-se 3% de hemácias tanizadas e incubou-se a 37°C por 90 minutos. Após, as hemácias foram centrifugadas e lavadas 3 vezes com tampão de diluição (SA contendo 1% de BSA) e por último, foram ajustadas numa concentração final de 0,75% em tampão de diluição e imediatamente utilizadas no teste.

Sobre microplacas de fundo U₉₆ de 96 cavidades, procedeu-se a diluição seriada dos 15 antissoros policlonais de referência, utilizando-se volumes de 50 µl. O mesmo volume da suspensão de hemácias foi adicionado em todas as cavidades da placa. As microplacas foram gentilmente homogeneizadas e incubadas a 37°C durante 2 horas. O título de cada antissoro foi expresso como a recíproca da maior diluição do soro onde ocorreu hemaglutinação.

RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Nesse estudo, foi realizada a sorotipificação de 8 isolados clínicos de *H. parasuis*, e, nossos resultados colocam de manifesto, que a técnica de HIm apresenta sensibilidade e especificidade para a sorotipificação de *H. parasuis* (Figura 1). Dos isolados clínicos avaliados, 3 (37,5%) reagiram fortemente contra o antissoro 12, 3 (37,5%) contra o antissoro 4 e 1 (12,5%) com o antissoro 15. Doze e meio por cento dos isolados não puderam ser tipificados, por reagirem de maneira semelhante frente a dois ou mais antissoros.

Estudos prévios realizados no Brasil, demonstram alta prevalência do sorotipo 4, seguido pelos sorotipos 5, 14, 13 e 2, em granjas da região centro-oeste e sudeste, advertindo uma similaridade com relação aos nossos resultados. Por outro lado, o sorotipo 12 demonstrou-se altamente prevalente em nosso estudo, chamando a atenção para a circulação na região sul de um sorotipo altamente virulento, praticamente indetectável em outros estados brasileiros.

A detecção do sorotipo 15 foi baixa (12,5%), no entanto, demonstra a variabilidade fenotípica existente na nossa região. A presença de isolados não tipificáveis (12,5%), assim como em outros estudos de sorotipificação, confirma a existência de cepas com características antigênicas distintas e que podem, em conjunto com os outros sorotipos detectados neste estudo, explicar o insucesso das atuais bacterinas comerciais utilizadas no Brasil.

CONCLUSÃO:

Neste estudo, colocamos de manifesto que a técnica de HIm apresenta sensibilidade e especificidade para sorotipificar isolados clínicos de *H. parasuis* e, seu sucesso, está atrelado ao tratamento das hemácias de carneiro com ácido tânico. Por último, destacamos a circulação de um sorotipo virulento pouco notificado em outros estados brasileiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Rapp-Gabrielson VJ, Gabrielson DA. Prevalence of *Haemophilus parasuis* serovars among isolates from swine. *Am J Vet Res.* 1992;53(5):659-64.
2. Del Rio ML, Gutierrez CB, Rodriguez Ferri EF. Value of indirect hemagglutination and coagglutination tests for serotyping *Haemophilus parasuis*. *J Clin Microbiol.* 2003;41(2):880-2.

INSIRA ARQUIVO.IMAGEM - SE HOVER:

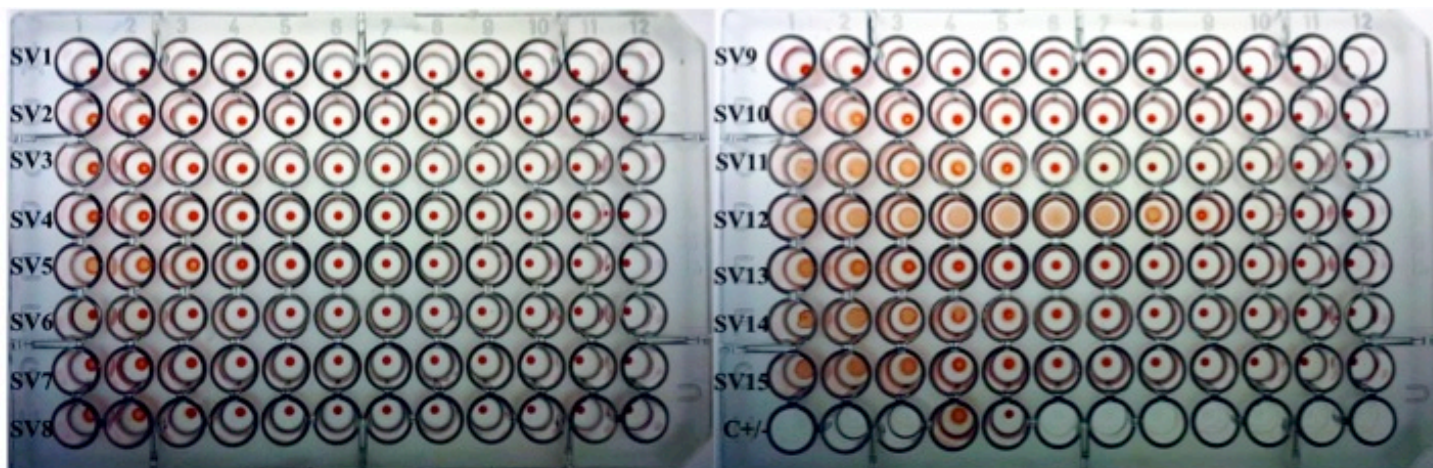


Figura 1. Sorotipificação de *H. parasuis* através da HIm. Nas microplacas estão dispostos os 15 antissoros de referência (SV1 ao SV15) produzidos em ratos Wistar. Claramente pode-se apreciar que os antígenos do isolado clínico em teste, reagem fortemente (título de 1:1.280) contra o antissoro 12 (SV12), sendo este o serotipo atribuído ao isolado. Reações cruzadas são advertidas contra os serotipos 5 (1:10), 10 (1:10), 11 (1:40), 13 (1:10), 14 e 15 (1:40), no entanto, os títulos são expressivamente inferiores.

Assinatura do aluno

Assinatura do orientador