

9. Inoculação em ovo embrionado

9.1 *Inoculação na Membrana Corioalantóide*

1. Utilizar ovos embrionados com idade entre 10 e 12 dias,
2. Delimitar o posicionamento da câmara de ar e do embrião no ovoscópio. Realizar a marcação com auxílio de lápis.
3. Desinfetar com álcool iodado as regiões onde o ovo será perfurado. Normalmente fazem-se dois furos na casca, um sobre a câmara de ar e outro na região mediana, onde se encontra o embrião e não há vasos sanguíneos.
4. Aspirar um pouco a câmara de ar com auxílio da porção de borracha de um conta gotas. Isso proporcionará a retração da região onde se encontra o embrião e a formação de uma pequena cavidade.
5. Injetar 2mL do inóculo através do orifício da câmara de ar, desprezar a solução dentro da câmara de ar.
6. Selar os orifícios com parafina aquecida, cuidando para que não penetre no interior do ovo e queime o embrião.
7. Incubar os ovos em estufa à 37°C por 72 horas.
8. Realizar o monitoramento diário através da ovoscopia, observando o desenvolvimento do embrião. Embriões mortos no primeiro dia pós-inoculação devem ser descartados, pois provavelmente tenha sido consequência da inoculação.
9. Após o período pré-determinado realiza-se o sacrifício do embrião, incubando o ovo na geladeira por um período de 4 horas.
10. Necropsiar o embrião e observar as alterações nas membranas externas e órgãos internos.

Vírus passíveis de inoculação na Membrana Corioalantóide:

- Vírus da Doença de Newcastle (NDV);
- Vírus da Cowpox;
- Vírus da Pseudo-raiva (PRV);

- Vírus da Laringotraqueíte Infecciosa (ILTV);
- Vírus das Encefalites Equinas do Leste, Oeste e Venezuelana (EEE, WEE, VEE);
- Vírus da Estomatite Vesicular (VSV).

9.2 *Inoculação na cavidade alantóide*

1. Utilizar ovos embrionados com idade entre 10 e 12 dias.
2. Delimitar o posicionamento da câmara de ar e do embrião no ovoscópio. Realizar a marcação com auxílio de lápis.
3. Desinfetar com álcool iodado as regiões da casca que serão perfuradas. Normalmente fazem-se dois furos na casca, um sobre a câmara de ar e outro na região mediana, onde se encontra o embrião e não há vasos sanguíneos.
4. Injetar 0,2mL de inóculo através da região mediana, direcionando a agulha para o embrião.
5. Selar o orifício com parafina aquecida, cuidando para que não penetre no interior do ovo e queime o embrião.
6. Incubar os ovos em estufa à 37°C pelo tempo pré-determinado para cada vírus.
7. Realizar o monitoramento diário através da ovoscopia, observando o desenvolvimento do embrião. Embriões mortos no primeiro dia pós-inoculação devem ser descartados, pois provavelmente tenha sido consequência da inoculação.
8. Após o período pré-determinado realiza-se o sacrifício do embrião, incubando o ovo na geladeira por um período de 4 horas.
9. Coletar o líquido alantóide que contém o vírus.

Vírus passíveis de inoculação na Cavidade Alantóide:

- Vírus da Influenza Equina (EIV);
- Vírus da Doença de Newcastle (NDV);

- Vírus das Encefalites Equinas do Leste, Oeste e Venezuelana (EEE, WEE, VEE);
- Vírus da Estomatite Vesicular (VSV);
- Vírus da Bronquite Infecciosa Aviária.

9.3 *Inoculação na gema*

1. Utilizar ovos embrionados com idade entre 10 e 12 dias,
2. Delimitar o posicionamento da câmara de ar e do embrião no ovoscópio. Realizar a marcação com lápis.
3. Desinfetar com álcool iodado as regiões onde o ovo será perfurado. Normalmente fazem-se dois furos na casca do ovo, uma sobre a câmara de ar e outro na região mediana, onde se encontra o embrião.
4. Aspirar um pouco a câmara de ar com auxílio da porção de borracha de um conta gotas. Isso proporcionará a retração da região onde se encontra o embrião e a formação de uma pequena cavidade.
5. Inocular 0,2mL de inóculo através do orifício na região mediana, desprezando a solução na gema, ou seja, no lado oposto ao embrião.
6. Selar os orifícios com parafina aquecida, cuidando para que não penetre no interior do ovo e queime o embrião.
7. Incubar os ovos em estufa à 37°C por 72 horas.
8. Realizar o monitoramento diário através da ovoscopia, observando o desenvolvimento do embrião. Embriões mortos no primeiro dia pós-inoculação devem ser descartados, pois provavelmente tenha sido consequência da inoculação.
9. Após o período pré-determinado realiza-se o sacrifício do embrião, incubando o ovo na geladeira por um período de 4 horas.

Vírus passíveis de inoculação na Gema:

- Vírus da Raiva (RabV);
- Vírus da Doença de Gumboro (cepa forte).