

AValiação PRELIMINAR DE UM TESTE ELISA PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA TOXINAS C E D DO *CLOSTRIDIUM BOTULINUM* DE BOVINOS.

Queiroz, R.A.¹, Madruga C.R.², Pires P.P.², Moraes S.S.²

¹Bolsista CNPq - Embrapa Gado de Corte, ²Embrapa Gado de Corte. BR 262, Km 4, Caixa Postal 154, Campo Grande, MS, Brasil. CEP: 79002-970. Fone: (67) 768-2000. (Área de Sanidade Animal, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte , Embrapa - Campo Grande - MS)

O botulismo foi associado à mortalidade de fêmeas adultas de bovinos que ocorreu nos últimos anos na região Centro-Oeste do Brasil. Deficiências das vacinas na proteção contra as toxinas C e D do *Clostridium botulinum* tem sido associado aos surtos de botulismo. No Brasil não há disponibilidade de um teste sorológico simples para detectar anticorpos contra toxinas C e D. Um teste com essas características seria muito importante para determinar o grau de imunidade humoral dos bovinos contra essas toxinas, bem como avaliar a qualidade das vacinas existentes no país. Entre as provas sorológicas desenvolvidas a imunoadsorção enzimática (ELISA) é a mais investigada devido a alta sensibilidade e simplicidade, quando comparada com a microfixação de complemento e a soroneutralização. Os antígenos para o teste ELISA indireto foram produzidos por meio de cultivo "in vitro" de *C. botulinum*. O sobrenadante dessa cultura foi precipitado com solução hipersaturada de sulfato de amônia e resuspenso com Tris HCl 0,1 M, pH 7,5. No desenvolvimento do ELISA indireto, após uma série de experimentos de padronização, o teste foi realizado adsorvendo antígeno com tampão carbonato/bicarbonato pH, 9,2 . O substrato para detecção de anticorpos contra toxina C foi o 2-2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline -6-ácido sulfônico (ABTS) e para a toxina D o ortofenil diamina (OPD). A análise do desempenho do teste ELISA indireto foi realizado com soros de animais não expostos a toxina, vacinados com toxóide e sobreviventes após desafio com toxina C ou D. Todos os animais não expostos a toxina apresentaram densidade ótica abaixo do cut-off (densidade ótica de 248). A média da densidade ótica dos animais vacinados também ficou abaixo do cut-off. Apenas os animais sobreviventes após o desafio apresentaram densidades óticas acima do cut-off. Os resultados preliminares do ELISA indireto demonstraram que esse pode ser utilizado para avaliação da eficiência da resposta imune às vacinas contra as toxinas C e D do *C. botulinum*.

Nome Completo ***Dr. Claudio Roberto Madruga***
Endereço ***Embrapa-CNPq. BR 262, Km 4, CP 154, Campo Grande.***
E-mail ***madruga@cnpgc.embrapa.br***
Fone com ***0XX67-768-2021***
Fone res ***0XX67-751-7258***
Fax ***0XX67-768-2150***
Palavra-chave ***C. botulinum, ELISA, toxina C e D, anticorpos.***
Áreas temáticas ***Doenças Infeciosas***