

## **MODIFICAÇÃO DA TÉCNICA DE MICROFIXAÇÃO DE COMPLEMENTO POR AQUECIMENTO, PARA O DIAGNÓSTICO DO BOTULISMO.**

**1 Pires, P.P; 2 Jardim, G.C (\*); 1 Moraes, S.S.; 3 Lobato, F.C.F.; 2Barbosa, D.C.; 4 Franco, R.M.; 4 Fernandez, M.F.; 5Varela, J.V. e 5 Machado, L.P.**

- 1- Embrapa – CNPGC, Campo Grande, MS, BRASIL
- 2- Faculdade de Medicina Veterinária – UNIDERP, Campo Grande, MS, BRASIL
- 3- Faculdade de Medicina Veterinária – UFMG, Belo Horizonte, MG, BRASIL
- 4- Faculdade de Biologia– UCDB, Campo Grande, MS,BRASIL
- 5- Faculdade de Medicina Veterinária – UFMS, Campo Grande,MS,BRASIL

O botulismo é doença de enorme importância econômica. Trata-se de uma intoxicação altamente fatal provocada pela ingestão de toxinas produzidas pelos *Clostridium botulinum*. O seu diagnóstico tem estado limitado, na maioria das vezes, à avaliação clínica e epidemiológica, o que justifica o investimento em provas laboratoriais como é o caso deste trabalho científico que relata as alterações que resultaram na instalação, com sucesso, da mencionada prova. Noventa animais bovinos, anelados, com 1,5 ano de idade, nunca vacinados contra botulismo foram intoxicados experimentalmente com DL<sub>50</sub> da toxina botulínica, das classes C e D, previamente determinada em bovinos das mesmas características de idade e raça. Desses animais colheu-se sangue para a pesquisa da presença da toxina em diferentes estágios da doença. A prova de fixação de complemento clássica foi modificada de maneira a permitir a sua instalação fácil e que seu resultado continuasse confiável. Testes com confiabilidade estatística garantiram a utilização tanto de tubos de ensaio de vidro como de polietileno, sem turvação do meio, bem como da filtração, ou não, do material em filtros de milipore. Testou-se o uso de solução salina 0,85% para diluição das antitoxinas e constatou-se que não foi possível sua utilização, provavelmente, pela falta de íons cálcio e potássio. As antitoxinas podem ser descongeladas por no máximo 2 vezes podendo ser conservadas a -20°C ou -70°C. O uso do complemento deve ser imediato pois sua atuação diminui rapidamente mesmo sob refrigeração. Pode-se produzir soro positivo pela adição de 10% de toxina botulínica com toxicidade de DL<sub>50</sub> igual a diluição de 1:2048 para a dose intraperitoneal de 0,25mL em camundongos suíços albinos com 30 g de peso; e que pode-se dispensar a primeira incubação da reação para a padronização do complemento. Com essas alterações pode-se viabilizar a instalação do teste de microfixação de complemento em laboratório com confiabilidade nos resultados.