

AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE ESPÉCIMES PARA DIAGNÓSTICO BIOLÓGICO DE TÉTANO

**DE TONI, Letícia¹; QUEVEDO, Pedro S.²; HARTWIG, Carla A.³; SCHILD, Ana⁴.
LADEIRA, Sílvia Leal⁴.**

¹ Aluna da Graduação do curso de Medicina Veterinária – FV/UFPel (ledetoni@hotmail.com);

² Aluno do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária – FV/UFPel;

³ Aluna do Programa de Pós Graduação em Química – IQG/UFPel;

⁴ Médica Veterinária do Laboratório Regional de Diagnóstico/UFPel.

1. INTRODUÇÃO

O tétano é uma doença infecciosa altamente letal às espécies de animais domésticos, provocada por uma toxina produzida pelo *Clostridium tetani*. É um bacilo Gram positivo, anaeróbio, formador de endósporos terminais arredondados, que lembram forma de “raquete” (Quinn et. al, 2005). No Brasil a ocorrência de surtos de tétano em bovinos não é comum, normalmente apresentando-se de forma esporádica. Os surtos são relacionados com higiene precária de instalações e utensílios utilizados no manejo dos animais (Dutra et al. 2001).

A infecção acontece quando, a partir do solo ou fezes contaminadas, o endósporo invade uma solução de continuidade da pele e encontra condições favoráveis para germinar e se multiplicar, produzindo a tetanospasmina. (Quinn et. al, 2005; Guerreiro et al, 1984). A toxina é responsável pelos sinais clínicos característicos da doença, tais como rigidez muscular, que pode resultar em posição de cavalete, espasmos localizados, disfagia, trismo, opistótono e prolapso de terceira pálpebra. (Quinn et. al, 2005; Guerreiro et al, 1984).

A tetanospasmina é liberada após a morte ou lise de bactérias em crescimento. A toxina penetra o Sistema Nervoso Central (SNC) e se liga às células nervosas que controlam a contração muscular, bloqueando a transmissão de estímulos inibitórios, resultando em espasmos musculares. (Tortora et al., 2000)

O diagnóstico de tétano geralmente é baseado nos sinais clínicos, que são característicos, e no histórico de trauma, tosquia, castração ou qualquer outro manejo que possa gerar uma porta de entrada para o agente. No entanto, podem ser realizadas uma série de provas biológicas que confirmem a suspeita clínica (Quinn et. al, 2005; Guerreiro et al, 1984). O objetivo do presente trabalho é comparar os resultados da prova de soro proteção em camundongos, realizada com diferentes materiais provenientes de surtos de tétano ocorridos em bovinos na região de abrangência do Laboratório Regional de Diagnóstico (LRD) da Faculdade de Veterinária - UFPel.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

No período de abril a dezembro de 2009 foram enviadas ao Laboratório de Bacteriologia do (LRD) da Faculdade de Veterinária – UFPel, 25 amostras de animais oriundos de propriedades da região sul do Rio Grande do Sul que apresentaram sintomatologia clínica compatível com tétano. Destes 12 eram soro sanguíneo, seis fragmentos musculares necróticos e sete correspondentes ao exsudato do possível local da lesão que serviu como porta de entrada para o agente do tétano. Para obter o diagnóstico foi realizada inoculação em camundongos utilizando-se três tipos de material para o desafio. Na cultura dos fragmentos musculares em meio de Robertson, este foi previamente adicionado de glicose e aquecido em banho-maria durante 15 minutos. Posteriormente resfriou-se o meio em água corrente e então, a cultura foi efetuada, seguida da adição de óleo mineral estéril para proporcionar um ambiente anaeróbico, necessário para a multiplicação do agente desejado. A cultura foi incubada a 37°C por 48-72 horas e as amostras que apresentaram turbidez do meio e presença de gás, o sobrenadante foi utilizado para inoculação em camundongo (Guerreiro et al, 1984). O soro sanguíneo foi inoculado nos camundongos a partir do pressuposto que os bovinos que apresentaram sintomatologia clínica possuíam toxina circulante e o líquido seroso foi coletado com seringa e inoculado em camundongo.

A cada amostra foram destinados quatro camundongos, sendo dois protegidos com 0,5 mL de soro antitetânico duas horas antes da inoculação e dois não protegidos, e todos os camundongos receberam entre 0,2 e 0,5 mL de inóculo. Através desta proteção com soro antitetânico, assegurou-se, no caso do óbito ou apresentação dos sinais clínicos, o tétano como causa morte (Guerreiro et al, 1984).

3. RESULTADOS

Dos 24 camundongos, não protegidos, inoculados com soro de animais doentes, seis manifestaram os sinais clínicos e cinco morreram, ou seja, 45,8%. Dos 14 camundongos, não protegidos, inoculados com líquido seroso, associado a regiões de necrose muscular referente a áreas de aplicação de medicamentos, dois (14,28%) morreram. Por fim, dos 12 camundongos, não protegidos, inoculados com o sobrenadante do meio de Robertson, cultivo do músculo de animais doentes, dois (16,7%) morreram, conforme mostra a Tabela 1. Os sinais clínicos iniciaram de 12 a 72 horas após a inoculação nos camundongos. Foi observada rigidez muscular nos membros posteriores, xifose da região torácica, hiper excitabilidade e morte. Nenhum dos camundongos protegidos com soro antitetânico manifestou sinais clínicos ou morreu.

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Dos materiais utilizados para realizar o diagnóstico de tétano, o soro sanguíneo de animais enfermos é o mais utilizado e, de acordo com os resultados obtidos a partir dos espécimes avaliados, constatou-se essa prova biológica como a mais sensível entre as que foram testadas. Por ser necessária a lise da bactéria para liberação da toxina, a região da necrose onde ocorre a proliferação do *Clostridium tetani*, pode ser vista como importante local de produção de toxina, no entanto o material oriundo destas massas musculares mostrou-se menos eficiente para a realização do diagnóstico do tétano. Schmitz et al., 2002, constataram o contrário, relatando menor sensibilidade do uso de soro sanguíneo em comparação ao uso de exsudato seroso para o diagnóstico de tétano bovino.

Já o sobrenadante do meio de Robertson apresentou-se como uma avaliação mais sensível que a inoculação de líquido seroso proveniente de regiões de necrose, porém ainda menos eficiente que o soro sanguíneo, podendo isso acontecer pela absorção da toxina pelo organismo, diminuindo a concentração de toxina no local.

Dada a rápida evolução clínica da doença e o tempo decorrido para realização das provas biológicas, não se recomenda aguardar o diagnóstico definitivo para iniciar o tratamento, quando este é possível. Considera-se o diagnóstico presuntivo satisfatório, levando em conta os sinais clínicos extremamente característicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Dutra I.S., Ferreira R.M.M., Mingoti G.Z. & Döbereiner J. 2001. Surto de tétano em bovinos de corte após aplicação de vacina e vermífugos. 8º Congr. Bras. Buiatria, Campo Grande, MS, p.46. (Resumo)

KONEMAN, Elmer W.; ALLEN, Stephen D.; JANDA, William M.; SCHRECKENBERGER, Paul C.; WINN, Washington C. Jr. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**. Philadelphia, New York: Ed. Lippincott, 1997

QUINN, P.J.; MARKEY, B.K.; CARTER, M.E. Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas. ed. Artmed.. 2005.

SARAIVA, D. *Clostridium tetani* In: GUERREIRO, M. G., OLIVEIRA, S.J., SARAIVA, D. et al. Bacteriologia especial de interesse em saúde animal e saúde pública. Porto Alegre: Sulina, 1984a.

SCHMITZ, M. ; SEITZ, A. ; TRAVERSO, S. D. ; LORETTI, A. P. ; COLODEL, E. M. ; DRIEMEIER, D. . Bioensaio em camundongos para diagnóstico de tétano em bovinos. In: XIII Salão de iniciação científica, 2002, Porto Alegre. Resumos do XIII Salão de iniciação científica. Porto Alegre : UFRGS, 2002. p. 152-153.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Cristine L.. **Microbiologia**. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2000.