

A leptospirose é uma zoonose sistêmica de ampla distribuição mundial. A despeito de o teste de absorção cruzada de aglutininas ainda ser considerado como o método padrão para a identificação dos sorovares de *Leptospira*, ele é muito trabalhoso e fica restrito a poucos laboratórios de referência. O presente trabalho foi delineado para caracterizar estirpes de *Leptospira* isoladas de vários hospedeiros, em diversas regiões do Brasil, pela análise do polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados (SE-AFLP) na tentativa de diferenciar espécies e sorogrupos. Foram estudadas 47 estirpes cujas espécies, *L. interrogans*, *L. santarosai*, *L. meyeri* e *L. borgpetersenii*, foram confirmadas previamente pelo sequenciamento do gene 16S rRNA, assim como a sorogrupagem realizada com anticorpos policlonais. O SE-AFLP permitiu a distinção das estirpes em 15 perfis, diferenciando *L. interrogans* de *L. santarosai*, *L. meyeri* e *L. borgpetersenii* em dois grupos principais, com mais de 60% de similaridade genética. Dentre *L. interrogans*, ainda foi efetuada a diferenciação de dois subgrupos, o sorogrupo *Icterohaemorrhagiae* dos sorogrupos *Canicola* e *Pomona*. As estirpes de *L. santarosai*, *L. meyeri* e *L. borgpetersenii* também foram diferenciadas ao nível de espécie dentro do seu agrupamento, sendo que *L. santarosai* apresentou maior variabilidade genética que as demais espécies. Aparentemente, não há correlação direta entre os hospedeiros, período e local de isolamento com os perfis genotípicos. SE-AFLP distinguiu com sucesso as espécies de *Leptospira*, e até mesmo alguns sorogrupos, sendo um método molecular menos laborioso e economicamente viável para a caracterização genotípica rápida da bactéria. **Palavras-chave:** Diferenciação genotípica. Estirpes de *Leptospira*. Análise do polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados.

ANTICORPOS AGLUTINANTES PÓS-VACINAIS ANTILEPTOSPIROSE EM REBANHOS DE BOVINOS E EQUINOS NATURALMENTE INFECTADOS POR LEPTOSPIRA SPP.

MARTINS, G.1; LOUREIRO, A. P.1; NARDUCHE, L.1; CORREIA, L.1; PINTO, P.1; LIBONATI, H.1; GRAPIGLIA, J.1; CAVALCANTE, E.1; OLIVEIRA, C.2; LILENBAUM, W.1

1 Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

2 EMBRAPA Gado de Leite, Campo Experimental Santa Mônica, Valença, RJ, Brasil.

A vacinação sistemática contra a leptospirose dos rebanhos de bovinos e equinos é um recurso profilático indicado para a redução dos agravos relacionados a essa infecção e dos prejuízos econômicos que ela determina. Nesse contexto, o presente trabalho investigou os níveis de anticorpos aglutinantes induzidos pela vacinação contra a leptospirose em rebanhos de bovinos e equinos naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Foram trabalhados dois rebanhos: um de bovinos (162 vacas) e um de equinos (54 éguas), ambos acometidos por leptospirose. Os animais foram divididos em grupos vacinados e não vacinados e foram utilizadas vacinas comerciais, de duas marcas em bovinos e uma em equinos. Foram efetuadas colheitas de sangue e urina durante 120 dias para sorologia (MAT) e PCR (lipL32), respectivamente. No dia zero (Do), em bovinos foi observado 26,7% de sororeatividade (sorogrupo Sejroe) e 21,7% de urina PCR-positivo. Já em equinos, no mesmo momento, foi observado 50% de sororeatividade (sorogrupo Australis) e 12,9% de urina PCR-positivo. Nas duas espécies de animais foi verificada diferença significativa na produção de anticorpos aglutinantes *antiLeptospira* entre os animais vacinados e não vacinados. Essa diferença foi observada somente até o D60 nas duas espécies. Não houve diferença significativa na produção de anticorpos aglutinantes entre as duas marcas de vacinas testadas em bovinos. Foram produzidos anticorpos aglutinantes contra todos os sorogrupos incluídos nas vacinas para bovinos e equinos. Contudo, os equinos apresentaram títulos de anticorpos aglutinantes pós-vacinais significativamente mais elevados que os bovinos. A conclusão obtida foi que a resposta de anticorpos aglutinantes pós-vacinais foi de curta duração, com títulos mais elevados em equinos. **Palavras-chave:** *Leptospira*. Bovinos. Equinos.

INQUÉRITO SOROLÓGICO DA LEPTOSPIROSE EM CAPRINOS OVINOS ABATIDOS NO ESTADO DA PARAÍBA, SEMIÁRIDO DO NORDESTE, BRASIL

COSTA, D. F.1; SILVA, A. F.1; FARIAS, A. E. M.1; BRASIL, A. W. L.1; SANTOS, F. A.1; GUILHERME, R. F.1; AZEVEDO, S. S.1; ALVES, C. J.1
1 Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

Foi determinada a frequência de caprinos e ovinos apresentando anticorpos *antiLeptospira* spp. Em animais abatidos em diferentes matadouros no Estado da Paraíba, região semiárida do Nordeste brasileiro. Foi coletado sangue de 500 caprinos

e 500 ovinos aleatoriamente selecionados. Para verificar a presença de anticorpos *antiLeptospira* spp. foi empregado o teste soroaglutinação microscópica (SAM), utilizando-se uma coleção de 24 sorovares como antígenos. Dos 1.000 animais examinados, 82 (8,2%; IC 95%= 7,0%-10,5%) foram sororreagentes, sendo 26/500 (5,2%; IC 95% = 3,5%-7,5%) em caprinos e 56/500 (11,2%; IC 95% 8,7%-14,2%) em ovinos. Os sorovares mais frequentes foram Hardjo tipo Hardjobovis (14,6%) e Autumnalis (13,4%). Na espécie caprina, o sorovar mais frequente foi o Hardjo tipo Hardjobovis, e na espécie ovina o Ballum, com frequências de 19,2% e 17,9%, respectivamente. Houve diferença significativa na frequência de positivos entre os matadouros, tanto para caprinos ($p = 0,035$) quanto para ovinos ($p = 0,004$), com o município de Alhandra apresentando a maior frequência de animais soropositivos para ambas as espécies. Concluiu-se que ovinos e caprinos da região semiárida do Nordeste podem estar adaptados aos sorovares Hardjo tipo Hardjobovis e Autumnalis, bem como roedores silvestres estarem envolvidos na transmissão do agente. Contudo, até o presente nenhum desses sorovares foi isolado de animais domésticos ou silvestres na região estudada. Possivelmente, as condições climáticas devem influenciar a transmissibilidade da leptospirose, especialmente na mesorregião da Mata Paraibana, mas isso não foi considerado suficiente para justificar a baixa frequência de animais soropositivos. Deste modo, pode ser aventada a hipótese de que a rusticidade dos pequenos ruminantes na região estudada contribui para a baixa sororeatividade verificada. **Palavras-chave:** Adaptabilidade. Caprinos. Leptospirose. Ovinos. Rusticidade.

FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À LEPTOSPIROSE EM CAPRINOS LEITEIROS NO SEMIÁRIDO DO BRASIL

HIGINO, S. S. S.1; SANTOS, F. A.1; COSTA, D. F.1; SANTOS, C. S. A. B.1; SILVA, M. L. C. R.1; ALVES, C. J.1; AZEVEDO, S. S.1

1 Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, PB, Brasil.

Foi realizado um estudo transversal com base em uma amostragem planejada para determinar os fatores de risco associados à infecção por *Leptospira* spp. em rebanhos de cabras leiteiras na região semiárida do Nordeste do Brasil. Amostras de soro de 975 cabras leiteiras adultas de 110 propriedades foram examinadas para detecção de anticorpos *antiLeptospira* spp. pela técnica de soroaglutinação microscópica (SAM), usando 24 sorovares. Foi aplicado nas propriedades um questionário estruturado para leptospirose animal a fim de determinar os possíveis fatores de risco. Dos 110 rebanhos amostrados, quarenta e oito (43,6%; IC 95%:34,2-53,4%) apresentaram pelo menos um animal soropositivo. O sorovar mais frequente foi Autumnalis (10,9%). Das 975 cabras testadas, noventa e oito (8,7%; IC 95%:5,7-12,9%; efeito do desenho = 4,23) foram soropositivas pela SAM, e o sorovar mais frequente também foi o Autumnalis (1,74%). A presença de roedores (OR = 2,78; $P = 0,015$) foi identificada como um fator de risco. Também houve associação entre o histórico de infertilidade (OR = 14,74; $P = 0,015$) e a frequência de rebanhos positivos. Foi sugerida a inclusão de um programa de controle de roedores no manejo do rebanho com o objetivo de reduzir a transmissão do agente e a ocorrência da doença. **Palavras-chave:** Leptospirose. Fatores de risco. Ruminantes. Roedores.

GENOTIPAGEM E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIMICROBIANOS DE ESTIRPES DE LEPTOSPIRA NOGUCHII

MIRAGLIA, F. 1 2; MORENO, L. Z.1; LOUREIRO, A. P.2; LILENBAUM, W.2; VASCONCELLOS, S. A.1; MORENO, A. M.1

1 Laboratório de Sanidade Suína e Virologia, Laboratório de Zoonoses Bacterianas, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

2 Laboratório de Bacteriologia Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ, Brasil.

Leptospira noguchii é uma das espécies patogênicas do gênero *Leptospira*. No Brasil, a *L. Noguchii* já foi isolada de diversas espécies de animais e do homem e o seu caráter zoonótico reforça a sua importância no cenário brasileiro da leptospirose. O presente trabalho foi delineado para caracterizar estirpes de *L. noguchii* isoladas de bovinos, no Estado do Rio de Janeiro em 2012, por meio da análise do polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificados (SE-AFLP) e pela determinação do perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos com o emprego da técnica de microdiluição em caldo. Foram avaliadas quatro estirpes de *L. noguchii*, tipificadas previamente pelo sequenciamento do gene 16S rRNA

assim como a sorogrupadas com anticorpos policlonais. A técnica de SE-AFLP resultou no agrupamento das quatro estirpes com mais de 70% de similaridade genética, sendo definidos dois grupos acima de 90% de similaridade: A1 contendo as estirpes U79 e U65 dos sorogrupos Autumnalis e Australis, respectivamente; e A2 que apresenta as estirpes U73 e U232 dos sorogrupos Panama e Autumnalis, respectivamente, com o mesmo perfil de banda. Em relação ao perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos, as estirpes de *L. noguchii* foram sensíveis à maior parte dos antimicrobianos testados, incluindo penicilina e ampicilina, que consistem no tratamento clássico da leptospirose. Gentamicina, neomicina, tetraciclina, sulfonamidas e fluoroquinolonas apresentaram maior variabilidade nos respectivos valores de concentração inibitória mínima. Dessa forma, apesar de a genotipagem apresentar alta similaridade, não foi observado correlação entre os agrupamentos genéticos com os sorogrupos das estirpes de *L. Noguchii*. **Palavras-chave:** Estirpes de *Leptospira*. Análise do polimorfismo do comprimento de fragmentos amplificadas. Bovinos.

IDENTIFICAÇÃO DE CÃES PORTADORES DE LEPTOSPIRAS PATOGENICAS MANTIDOS EM ABRIGOS COLETIVOS

MIOTTO, B. A.1; GUILLOUX, A. G.A.2; HORA, A. S.2; TOZZI, B. F.1; PENTEADO, M. S.1; HAGIWARA, M. K.1

1 Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

2 Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

A leptospirose é uma zoonose de distribuição cosmopolita causada pela infecção de bactérias patogênicas do gênero *Leptospira*. Cães podem tornar-se portadores, eliminando *leptospiras* pela urina de forma assintomática. Quando albergados em abrigos coletivos, podem atuar inadvertidamente como fonte de infecção para outros cães, tratadores e adotantes. Esse estudo foi delineado para investigar a presença de cães portadores de *leptospiras* patogênicas mantidos em abrigos coletivos. Foram coletadas amostras de urina e sangue de 92 cães albergados no canil da Prefeitura do Campus Universitário da USP, São Paulo, entre julho e dezembro de 2013. Os cães foram avaliados por qPCR quanto à presença de *leptospiras* em amostras de urina e sangue por meio da amplificação de fragmento parcial do gene lipL32. Os animais leptospirúricos foram reavaliados periodicamente quanto à persistência da eliminação renal e à presença de títulos de anticorpos pela soroaglutinação microscópica (SAM), além de serem submetidos a coletas de urina por cistocentese para cultivo e isolamento bacteriano. Dos 92 animais examinados, dez cães apresentaram leptospirúria, sendo identificados dois animais (A e B) com eliminação persistente ao longo das reavaliações. Esses cães foram examinados em 12 e 16 ocasiões, respectivamente, pelo período de 14 semanas. Ambos foram positivos à qPCR em todas as ocasiões, o isolamento de *leptospiras* foi obtido em duas avaliações do animal A e em cinco avaliações do animal B. Não foi observada soroconversão, assim como não foi estabelecida a identificação direta do agente em amostras de sangue, caracterizando o estado portador renal nos dois animais com eliminação persistente de *leptospiras* na urina. **Palavras-chave:** Cães. *Leptospira*. Abrigo para animais.

IMUNOGLOBULINAS Y POLICLONAIS ANTILEPTOSPIRA SPP.: PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO

GOMES, D. O.1; PIRES, B. C.1; TAVARES, T. C. F.1; SOARES, P. M.1; SOUZA, M. A.1; LIMA, A. M. C.1

1 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

Ovos de galinhas imunizadas produzem imunoglobulinas denominados imunoglobulinas Y ou IgY, que têm apresentado várias aplicações em imunodiagnóstico, imunoterapia e estudos de proteínas imunorreagentes. O presente trabalho foi delineado para investigar se as IgYs de galinhas imunizadas com uma solução de *Leptospira interrogans* inativadas e proteínas de membrana externa do sorovar Hardjo poderiam ser detectadas em testes ELISA para o diagnóstico de Leptospirose. Oito galinhas com 25 semanas de idade, da raça White Leghorn, foram divididas em três grupos: A) três imunizadas com uma suspensão de *leptospiras* inativadas; B) três imunizadas com uma solução de proteínas de membrana externa extraída do sorovar Hardjo; e C) duas não inoculadas, controle. As coletas de sangue foram procedidas quinzenalmente e as de ovos diariamente. A IgY foi purificada com o processo de delipidação da gema dos ovos utilizando método de diluição em água

ácida, e a precipitação com sulfato de amônio. Verificou-se que houve a produção de anticorpos anti*Leptospira*, tanto no soro quanto nas gemas purificadas, pelos testes de ELISA. O pico de produção de anticorpos específicos ocorreu na 5ª semana após a primeira imunização. Ficou demonstrada a possibilidade da indução da produção de anticorpos específicos em galinhas imunizadas com *leptospiras* do sorovar Hardjo inativadas, bem como com proteínas de membrana externa (PME) extraídas desse sorovar. As galinhas imunizadas com uma suspensão de *leptospiras* inativadas ou com PME de *Leptospira interrogans* do sorovar Hardjo produziram anticorpos reativos a PME Hardjo detectáveis no teste ELISA. **Palavras-chave:** Imunoglobulinas. IgY. *Leptospira interrogans*. Proteínas de membrana externa.

ISOLAMENTO DE ESTIRPES DE LEPTOSPIRA SPP. EM DIFERENTES ESPÉCIES DE HOSPEDEIROS QUE CONVIVEM EM AMBIENTE RURAL NA REGIÃO SUL DO BRASIL

SILVA, F. J.1; LOFFLER, S. G.4; BRIHUEGA, B.4; SANTOS, C. E. P.3; VASCONCELLOS, S. A.2; MATHIAS, L.A.1

1 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.

2 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

3 Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.

4 Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Castelar, Argentina.

O presente trabalho relata o isolamento de estirpes de *Leptospira* spp. em diferentes espécies de hospedeiros que convivem em área rural na região sul do Brasil. Houve aprovação de comissões de ética humana e animal. Em dezembro de 2012, amostras de urina foram colhidas de animais de vida livre, domésticos e humanos em pequenas propriedades rurais de municípios da região sul. A pesquisa de *leptospiras* foi efetuada por cultivos de amostras de urina semeadas nos meios de Fletcher e de Ellinghausen - McCullough - Johnson - Harris (EMJH). Cultivos apresentando crescimento de *leptospiras* foram encaminhados ao Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Buenos Aires, Argentina, e as estirpes de *leptospiras* isoladas foram genotipadas com emprego da técnica de Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). A tipificação empregou os VNTR 4, 7, 9, 10, 19, 23, 31, Lb4 e Lb5, que discriminam estirpes de *L. interrogans* e *L. borgpetersenii*. Em Urubici, SC, foi identificada a estirpe *Leptospira interrogans Canicola Hond Utrecht IV* em um *Didelphis aurita*, em uma vaca e em uma mulher. Em Santana da Boa Vista, RS, foi identificada a estirpe *Leptospira interrogans Icterohaemorrhagiae Copenhageni L1-130*, em um *Euphractus sexinctus* e em um cão, a mesma estirpe foi isolada de um cavalo e de um homem em Cruz Alta, RS. Em Chuí, RS, foi identificada estirpe *Leptospira interrogans Icterohaemorrhagiae RGA* em um *Myocastor coypus* e estirpe *Leptospira interrogans Icterohaemorrhagiae Copenhageni L1-130* em uma ovelha. Os resultados obtidos indicam a possibilidade de transmissão interespecífica do agente em ambientes rurais. **Palavras-chave:** Estirpes de *Leptospira*. MLVA. Transmissão.

ISOLAMENTO DE LEPTOSPIRA BORGPETERSENII de CEBUS APELLA EM PROPRIEDADE RURAL DE AGRICULTURA FAMILIAR DA CHAPADA DOS GUIMARÃES, MT

SILVA, F. J.1; SANTOS, C. E. P.3; LOFFLER, S. G.4; SILVA, T. R.1; BRIHUEGA, B.4; VASCONCELLOS, S. A.2; MATHIAS, L. A.1

1 Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil.

2 Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

3 Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT, Brasil.

4 Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Castelar, Argentina.

Primates não humanos de vida livre são importantes fontes de infecção de *leptospiras* para humanos e animais domésticos. Por serem astutos, suas capturas são difíceis e pouco frequentes, situação que oferece especial desafio ao estudo de isolamento de *leptospiras*. O objetivo do trabalho é descrever um caso de isolamento de *Leptospira borgpetersenii* de um espécime de *Cebus apella*. Houve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais, protocolo 027958/10. Por cistocentese, foi realizada a colheita de urina de um macho adulto capturado em uma pequena propriedade rural da Chapada dos Guimarães, MT, em agosto de 2012. A pesquisa de *Leptospira* spp. na urina foi efetuada por cultivos nos meios de Fletcher e de Ellinghausen - McCullough - Johnson - Harris (EMJH). Após observação do crescimento de espiroquetas em microscopia de campo escuro, a estirpe isolada foi encaminhada ao Laboratório de Leptospirose do Instituto de Patobiologia, Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Buenos Aires, Argentina, onde foi genotipada com o emprego da técnica de Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA). O procedimento de tipificação empregou