

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 *antiLeptospira*, 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 sexcinctus* 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