



GENOTIPAGEM DE *Leptospira interrogans* ISOLADA DA URINA DE VACA LEITEIRA DE UMA PROPRIEDADE DO NORTE DO PARANÁ

Roberta Torres Chideroli¹, Leonardo Mantovani Favero², Lucienne Garcia Pretto Giordano³, Alice Fernandes Alfieri⁴, Ulisses de PaduaPereira⁴

Informações do autor principal: Pós-graduanda em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina (UEL) – upaduapereira@uel.br

A leptospirose é uma doença de distribuição mundial que oferece riscos à saúde humana e animal. Em animais de produção, o maior impacto está relacionado à esfera reprodutiva gerando grandes perdas econômicas ao produtor rural. A soroglutinação microscópica (SAM) é o método sorológico de diagnóstico mais utilizado para identificar o sorogrupo mais provável, porém, sua principal desvantagem é a possibilidade de reações cruzadas entre os diferentes sorogrupos. Nos últimos anos, a tipificação e a detecção de novas espécies e genótipos de leptospirosas utilizando técnicas moleculares tem sido amplamente aplicadas auxiliando no diagnóstico final da doença. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar espécie e genótipo de uma leptospirosa isolada de urina de um bovino utilizando duas técnicas de biologia molecular. A cultura foi obtida da urina de uma vaca de uma propriedade leiteira do norte do Paraná e mantida na bateria de isolados de *Leptospira* spp. do Laboratório de Leptospirose da Universidade Estadual de Londrina. A presença do DNA foi detectada pela técnica da PCR e a caracterização molecular dos isolados foi realizada pela *multiple-locus variable number tandem repeat* (VNTR) *analysis* (MLVA) associada ao sequenciamento parcial do gene *secY*. A qualidade da sequência foi analisada visualmente no software BioEdit e as identidades foram comparadas com todas as sequências depositadas no banco de dados não redundante do GenBank usando o programa BLAST. O alinhamento foi criado no programa BioEdit usando o pacote clustalW e a árvore filogenética construída usando o software MEGA. O resultado do sequenciamento revelou que o isolado pertence à espécie *L. interrogans* e está alocada no cluster mais próximo do sorogrupo Bataviae e também do Autumnalis. No MLVA, a análise de bandas apresentou um padrão semelhante para mais de um perfil de VNTR distintos dentro da espécie *L. interrogans* (genótipos do sorogrupo Australis, Autumnalis, Bataviae e Canicola). Portanto, estes padrões de VNTR obtidos revelaram diversidade genética e uma possível nova variante dentro do sorogrupo Autumnalis ou Bataviae. Os bovinos são considerados hospedeiros de manutenção do sorovar Hardjo e estudos soroepidemiológicos realizados no Brasil indicam que esse sorovar está amplamente distribuído em praticamente todos os estados do país. Entretanto, os resultados da SAM (dados não publicados) e também da caracterização molecular não classificaram este isolado como sorogrupo Sejroe sorovar Hardjo, logo sugere-se que este sorovar de leptospirosa pode ser mantido no meio ambiente por animais silvestres próximos a região. Somente com estas técnicas não foi possível identificar com precisão qual é o sorovar e genótipo dentro da espécie *L. interrogans*. A utilização de painéis de anticorpos monoclonais pode ajudar na caracterização deste isolado, e a obtenção de dados epidemiológicos pode auxiliar na detecção do possível hospedeiro de manutenção.

Palavras-chave: caracterização molecular. leptospirose. sequenciamento genético.

Fonte de Financiamento: CAPES.