

PERFIL ELETROFORÉTICO DAS PROTEÍNAS DE MEMBRANA EXTERNA DE DIFERENTES SOROVARIEDADES DE *Leptospira interrogans*

CASTRO, E. C¹.; LAFETÁ, B. N¹. ; SILVA, N^{1*}

Introdução:

A leptospirose é uma zoonose de ampla distribuição mundial. Em animais, sua importância econômica está relacionada aos prejuízos nos sistemas de produção da pecuária leiteira e de carne, principalmente em bovinos, decorrentes dos problemas reprodutivos. Abortos e mortalidade embrionária, nascimento de bezerros fracos ou prematuros, assim como natimortalidade e mastites, são os quadros mais frequentes. Entre as medidas de controle está imunizar os animais utilizando bacterinas polivalentes contendo as sorovariedades existentes nas propriedades ou região, uma vez que não existe uma imunidade cruzada satisfatória entre as diferentes sorovariedades de leptospira. Estudos mostram que as leptospirosas possuem Proteínas de Membranas Externa (PME) envolvidas nos processos infecciosos causados por estas bactérias e que têm capacidade imunodominante. Este trabalho teve como objetivo verificar o perfil proteico da membrana externa da de diferentes sorovariedades de *Leptospira interrogans* por meio da técnica de eletroforese unidimensional, a fim de identificar as proteínas expressadas em maior quantidade em condições *in vitro*.

Metodologia

Foi comparado o perfil eletroforético das Proteínas de Membrana Externa de *Leptospira interrogans*, sorovariedades *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *wolffi* e *hardjobovis*, através da eletroforese unidimensional (SDS-PAGE) e teste de Western blot. Foram utilizadas técnicas de extração de membrana externa utilizando detergente Triton X114 (CUNNINGHAM et al., 1988) e precipitação de proteínas a partir de acetona (HAAKE et al. 1991). A quantificação da mesma se deu por leitura da densidade ótica em espectrofotômetro. As imagens conseguidas através de SDS-PAGE e Western blot foram fotografadas por câmera digital e analisadas visualmente. Os valores foram inferidos através de comparação com Padrões de Peso Molecular conhecidos e previamente estabelecidos.

Resultados e Discussão

Ao analisar os resultados obtidos por SDS PAGE foram observadas 16 bandas de proteínas reagentes, sendo que as bandas de 68 kDa, LipL48, LipL41, LipL36, LipL32, LipL29 e LipL22, foram as mais evidentes em todas as sorovariedades estudadas (Fig. 1). Nos testes de Western blot

1- Laboratório de Diagnóstico e Pesquisa em Doenças Infecciosas, DMVP- Escola de Veterinária da UFMG – Av. Antônio Carlos 6627, Pampulha, Belo Horizonte-MG / e-mail: nivsilva@gmail.com

em soros de bovinos naturalmente infectados, as PME LipL41, LipL32 e LipL22 também se mostraram evidentes (Fig. 2). Apesar dos perfis protéicos das membranas externas referentes às quatro amostras apresentaram-se muito próximos, eles não são idênticos entre si. Nem todas as proteínas que se mostraram presentes em grande quantidade na membrana externa dessas leptospiras podem ser consideradas como bons candidatos a imunógenos por não serem detectadas por Western blot, como a LipL36 e a PME de 68 kDa.

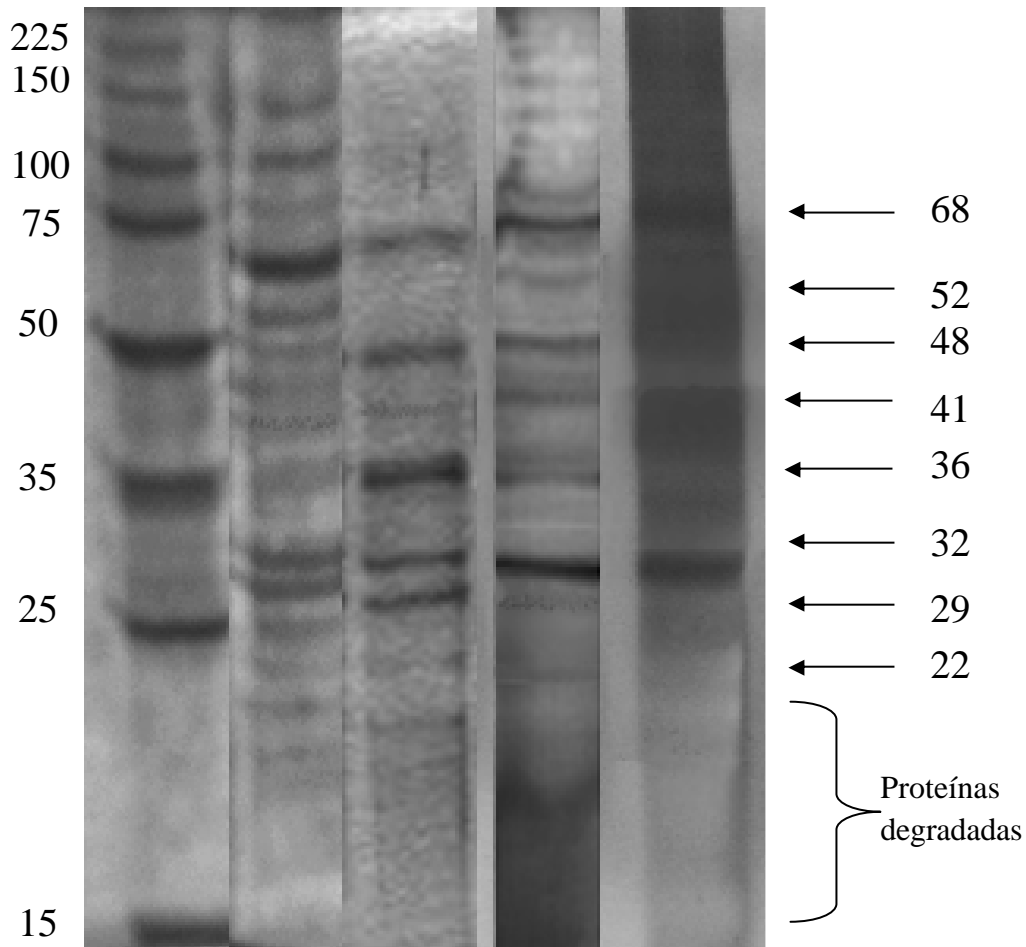


Fig. 1 Gel unidimensional de proteínas de membrana externa de *L. interrogans*, sorovarietades *hardjobovis*, *wolffi*, *icterohaemorrhagiae* e *pomona*. Colunas: 1 - Padrão de peso molecular de proteína (em kDa), 2- *L. hardjobovis*, 3- *L. wolffi*, 4- *L. icterohaemorrhagiae*, 5- *L. pomona*.

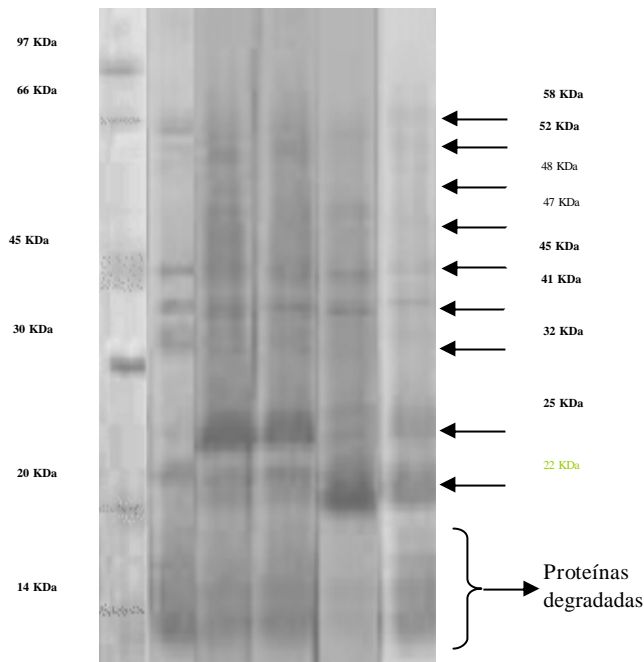


Figura 2. Testes de Western blot realizados com soros de animais naturalmente infectados para detecção de proteínas de membrana externa de *Leptospira interrogans* sorovariedades *icterohaemorrhagiae*, *pomona*, *wolffi* e *hardjobovis*. Colunas 1 – Peso Molecular em *kDa*, 2 – *L. hardjobovis*, 3 e 4 – *L. wolffi*, 5 *L. icterohaemorrhagiae*, 6 – *pomona*.

Bibliografia:

CUNNINGHAM, T.M.; WALKER, E. M.; MILLER, J. N. et al. Selective release of *Treponema pallidum* outer membrane and associated polypeptides with triton x-114. *J. Bacteriol.*, v.170, n.12, p.5789-5796, 1988.

HAAKE, D. A.; WALKER, E. M.; BLANCO, D. R. et al., Changes in the surface of *Leptospira interrogans* serovar *grippotyphosa* during "in vitro" cultivation. *Infect. Immun.*, v.59, n.3, p.1131-1140, 1991.