

## USO DE MALDI-TOF MS PARA AVALIAÇÃO DE SIMILARIDADE DE ISOLADOS DE *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* CAUSADORES DE MASTITE

Lígia Pereira<sup>1</sup>, Carlos Fidelis<sup>1</sup>, Breno Garcia<sup>1</sup>, Gustavo Freu<sup>1</sup>, Juliana Portela<sup>1</sup>, Isabelle Pedrosa<sup>1</sup>, Marcos Veiga dos Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Pesquisa em Qualidade do Leite, Qualileite, Universidade de São Paulo  
*ligiarizzanti@usp.br*

*Streptococcus agalactiae* é uma das principais causas da mastite subclínica em vacas leiteiras, que causa grandes perdas econômicas para fazendas leiteiras, por isso, a identificação rápida é de extrema importância. Métodos moleculares são empregados para entender a epidemiologia do *S. agalactiae*, entretanto, novas tecnologias podem ser empregadas para rápida identificação e avaliação de similaridade do *S. agalactiae*. O objetivo do presente estudo foi de avaliar o uso de MALDI-TOF MS para a determinação de similaridade de isolados de *S. agalactiae* causadores de mastite em vacas e búfalas. Foram utilizadas 52 isolados de *S. agalactiae*, identificados a partir de amostras de leite de 3 rebanhos leiteiros comerciais do estado de São Paulo - Rebanho I (bovino): n = 17; rebanho II (bovino): n = 17; rebanho III (bubalino): n = 18. Para avaliação de similaridade as amostras de leite foram inoculadas em meio ágar sangue suplementado com 5% de sangue bovino, e incubados a 37°C por 24 e 48h. Após crescimento, os isolados bacterianos foram submetidos a identificação por MALDI-TOF MS. Resumidamente, para extração das proteínas ribossomais uma colônia foi transferida para a placa de aço (MSP 96-spot, Bruker Daltonics Inc.), em seguida 1µl de ácido fórmico 70% foi aplicado em cada poço e submetido a secagem em temperatura ambiente. A seguir, 1µl de matriz HCCA foi aplicado em cada um dos poços. Todas as análises foram realizadas em triplicata. Após a secagem da matriz, a obtenção dos espectros foi realizada via função manual pelo software FlexControl na faixa de 2 a 20 kDa. Os isolados foram submetidos a identificação microbiológica pelo software MALDI Biotyper 4.1.7 de acordo com as especificações do fabricante. Escores  $\geq 2,0$  foram considerados confiáveis para identificação em nível de gênero e espécie, somente os isolados que apresentaram identificação para *S. agalactiae* foram submetidos a avaliação de similaridade pelo software FlexAnalysys. Um total de 52 isolados foram agrupados em seis clusters (A ao F), com base na similaridade espectral. Destes, 23% (n = 12) foram agrupados no cluster A, 21,1% (n = 11) no cluster C, e 17,3% (n = 9) no cluster D. Os cluster que apresentaram a menor quantidade de isolados foram os clusters B (13,5%; n = 7), E (13,5%; n = 7), e F (11,5%; n = 6). O uso de MALDI-TOF permitiu agrupar a maior parte dos isolados dos rebanhos I, II e III separadamente. Em relação aos isolados do rebanho I, 16 (16/17) isolados foram agrupados nos clusters B e C. Apenas 1 (1/17) isolado foi agrupado no cluster A. Em relação ao rebanho II, a maior parte dos isolados (11/17) foram agrupados no cluster A, ao passo que 3 (3/17) isolados foram agrupados no cluster D, 2 (2/17) no cluster F, e apenas 1 (1/17) foi agrupado no cluster C. Em relação ao rebanho III, 7 (7/18) isolados foram agrupados no cluster E, 6 (6/18) isolados no cluster D, 4 (4/18) no cluster F, e apenas 1 (1/18) isolado foi agrupado no cluster C. Ainda que não tenha sido usada uma metodologia padrão para a avaliação da similaridade entre os isolados, os resultados preliminares indicam que o uso da MALDI-TOF pode ser uma alternativa para a avaliação de similaridade entre isolados, o que pode auxiliar na caracterização do perfil epidemiológico dentro de um rebanho, ou entre rebanhos diferentes.

Palavras-chave: espectrometria de massa, MALDI-TOF MS, *Streptococcus agalactiae*