



LEPBANK: UM BANCO DE DADOS ON-LINE PARA IDENTIFICAÇÃO DE ISOLADOS DE LEPTOSPIRA

Eslabão, Marcus R.¹ ; Cerqueira, Gustavo M. ² ; Dellagostin, Odir A. ¹

¹Centro de Biotecnologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil; ²Centro de Biotecnologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil. E-mail: marcus.eslabao@yahoo.com.br

1. INTRODUÇÃO

A leptospirose é uma importante doença infecciosa causada por leptospiras patogênicas que são mantidas na natureza por um amplo espectro de mamíferos reservatórios (Faine et al., 1999; Bharti et al., 2003). Atualmente, leptospiras patogênicas são classificadas em aproximadamente 300 sorovares e 19 espécies (Cerqueira, GM, Personal Communication). Um método eficiente para notação de cepas e isolados, envolve a utilização de sequenciamento genético de regiões como a RRS, rpoB, secD, ligB e outros. As vantagens destes métodos em comparação a outros, incluem um rápido retorno e a viabilidade de ser aplicado na maioria dos países. O fato de não necessitar de grandes quantidades de DNA puro e o baixo custo torna o sequenciamento a forma ideal para identificação em larga escala de bactérias (Clarridge et al., 2004), incluindo espécies de *Leptospira* (Hookey et al.; 1993, Postic et al., 2000). Bancos de dados de sequências estão disponíveis para bactérias como *Mycobacterium tuberculosis* (Allix-Béguec et al., 2008), bem como para organismos eucariontes como alguns fungos (Nilsson et al., 2009). A tendência mundial é cada vez mais reduzir o tempo gasto com pesquisas que envolvem uma quantidade significativa de processos manuais e análises complementares, substituindo por procedimentos simples, rápidos e centrados em um único site. O presente estudo teve como objetivo criar um novo banco de dados com a finalidade de organizar sequências taxonômicas de *Leptospira*. Assim sendo, o LepBank é um banco de dados on-line com a finalidade de agrupar e organizar sequências de *Leptospira*, que contenham marcadores taxonômicos, em um único site, sendo o seu principal objetivo facilitar a comparação de sequências que são úteis para classificação de *Leptospira*.

2. METODOLOGIA

Na área de pesquisa o LepBank permite pesquisas de ácidos nucléicos, subsequências, alinhamentos em formato FASTA, organismos e depositores (Figura 1). Os resultados da pesquisa são exibidos em uma Web Page HTML, onde estão contidos os campos: número de identificação da sequência, nome do gene e a

sequência nucleotídica em formato FASTA. O depósito de seqüências, praticamente todos os registros do LepBank, são inseridos via submissão eletrônica, através do site lepbank.ufpel.edu.br. O LepBank atribui automaticamente, no momento do depósito, um número para a identificação dos dados, cujo o conteúdo corresponde à uma sequência lógica de letras e números. O número de identificação fornecido permite aos leitores de artigos, no qual a sequência é citada, a possibilidade de acessar os dados contidos no site de forma direta. As informações depositadas passam por uma revisão onde são analisadas e comparadas as informações fornecidas pelos depositores para ocorrer posteriormente à disponibilização ao público. Logo após a aprovação dos dados, um e-mail é enviado dos revisores do Lepbank para o depositador. A liberação dos dados ao público pode ser imediata ou agendada para uma data específica. Apenas ao pesquisador é concedida a permissão para alterar os dados já submetidos, sendo feito pelo link Sequence Updating no site lepbank.ufpel.edu.br. O servidor do LepBank utiliza como Web Server o Apache HTTP Server 2.0 (httpd.apache.org) e o Servidor SQL Firebird 2.1 SQL Server (www.firebirdsql.org). A interface web foi criada em HTML. Um Apache Shared Module gerencia os dados, permitindo a manipulação de usuários e seqüências. A sua interface on-line permite eficiente entrada ou edição de dados. LepBank é uma ferramenta livre, disponível no endereço lepbank.ufpel.edu.br.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O código fonte está disponível em nosso servidor, para visualizá-lo, por favor, acesse lepbank.ufpel.edu.br/source.htm. O LepBank possui atualmente 174 seqüências de DNA de diferentes espécies de *Leptospira*, cobrindo 5 diferentes genes. Embora o número de seqüências ainda seja limitado, o mesmo foi suficiente para uma avaliação inicial. É esperado um número maior de depósitos quando o banco de dados tornar-se acessível ao público. Além disso, o LepBank irá indexar-se nos principais sites relacionados a investigação de *Leptospira*, como forma de convidar outros depositantes.

4. CONCLUSÃO

O LepBank, demonstrou-se uma ferramenta rápida e precisa, sua implementação de forma simples e as ferramentas utilizadas para sua criação auxiliaram afim de se obter um maior desempenho e precisão em um curto espaço de tempo, seguindo a tendência de cada vez mais disponibilizar ferramentas gratuitas e on-line apoiando o trabalho do pesquisador.

5. AGRADECIMENTOS MRS foi apoiado pelo CNPq, Ministério da Ciência e Tecnologia, Brasil. GMC foi apoiado pela CAPES fundação, Ministério da Educação, Brasil.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allix-Béguet, C., Harmsen, D., Weniger, T., Supply, P., Niemann, S. **Evaluation and Strategy for Use of MIRU-VNTRplus, a Multifunctional Database for Online Analysis of Genotyping Data and Phylogenetic Identification of Mycobacterium tuberculosis Complex Isolates.** J. Clin. Microbiol. 46, 2692--2699 (2008).

Apache HTTP Server 2.0. Disponível em: <<http://httpd.apache.org>>. Acesso em: 24 jul. 2009.

Bharti, A.R., Nally, J.E., Ricaldi, J.N., Matthias, M.A., Diaz, M.M., Lovett, M.A., Levett, P.N., Gilman, R.H., Willig, M.R., Gotuzzo, E., Vinetz, J.M. **Leptospirosis: A zoonotic disease of global importance.** Lancet Infect. Dis. 3, 757--771 (2003).

Clarridge, J.E. **Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases.** Clin. Microbiol. Rev. 17, 840--862 (2004).

Faine, S.B., Adler, B., Bolin, C., Perolat, P. **Leptospira and leptospirosis.** Melbourne, Australia, MediSci (1999).

Firebird 2.1 SQL Server, Disponível em: <<http://www.firebirdsql.org/>>. Acesso em 24 jul. 2009.

Hookey, J.V., Bryden, J., Gatehouse, L. **The use of 16S rDNA sequence analysis to investigate the phylogeny of Leptospiraceae and related spirochaetes.** J. Gen. Microbiol. 139, 2585--2590 (1993).

Nilsson, R.H., Bok, G., Ryberg, M., Kristiansson, E., Hallenberg, N. **A software pipeline for processing and identification of fungal ITS sequences.** Source Code Biol. Med. 4:1 (2009).

Postic, D., Riquelme-Sertour, N., Merien, F., Perolat, P., Baranton, G. **Interest of partial 16S rDNA gene sequences to resolve heterogeneities between Leptospira collections: application to L. meyeri.** Res. Microbiol. 151, 333--341 (2000).

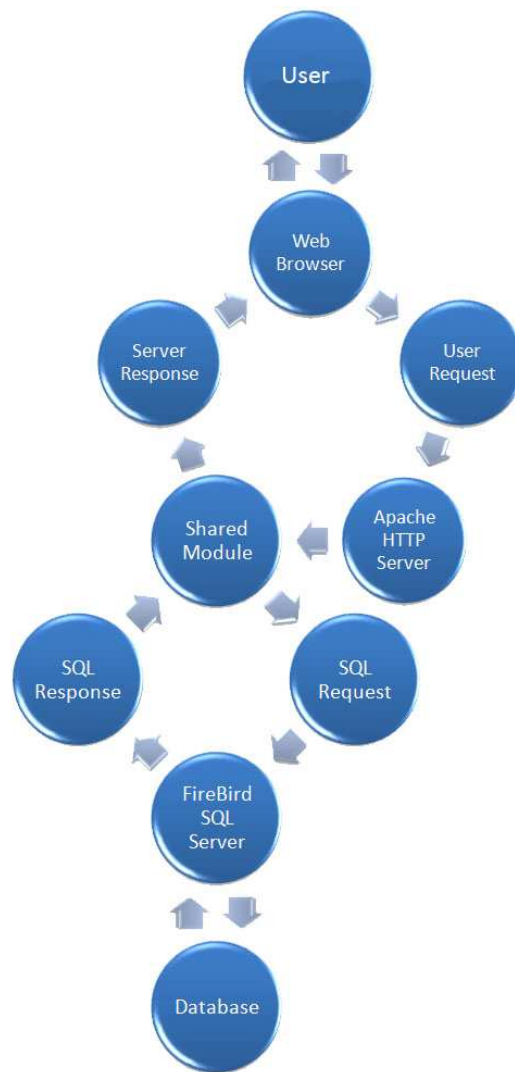


Figura 1. Ilustração esquemática da organização interna do Lepbank, demonstrando as interações entre a entrada e a saída de dados.