

ISSN 1980-6841
Julho, 2019

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pecuária Sudeste
Embrapa Instrumentação
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 134

Anais da XI Jornada Científica - Embrapa São Carlos

Editores Técnicos

Alexandre Berndt
Ana Rita de Araujo Nogueira
Lea Chapaval Andri
Marcelo Mattos Cavallari
Manuel Antônio Chagas Jacinto

Embrapa Pecuária Sudeste
São Carlos, SP
2019

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luiz, km 234

Caixa Postal 339

Fone: (16) 3411-5600

Fax: (16) 3361-5754

www.embrapa.br/pecuaria-sudeste

www.embrapa.br/fale-conosco

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Alexandre Berndt

Secretária-Executiva: Simone Cristina Méo Niciura

Membros: Ane Lisye F. G. Silvestre, Maria Cristina Campanelli Brito,

Milena Ambrósio Telles, Mara Angélica Pedrochi

Comitê PIBIC - Embrapa Pecuária Sudeste

Alexandre Berndt – Coordenação

Ana Rita de Araujo Nogueira

Lea Chapaval Andri

Juliana Gonçalves Costa

Manuel Antônio Chagas Jacinto

Marcelo Mattos Cavallari

Maria Cristina Campanelli Brito

Silvia Helena Piccirillo Sanchez

Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito

1ª edição online – 2019

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Embrapa Pecuária Sudeste

J82xi Jornada Científica Embrapa – São Carlos, SP.

Anais / editores técnicos, Alexandre Berndt, Ana Rita de Araújo Nogueira, Lea Chapaval Andri, Marcelo Mattos Cavallari, Manoel Antônio Chagas Jacinto. - São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste: Embrapa Instrumentação, 2019.

70 p. – (Embrapa Pecuária Sudeste. Documentos, ISSN 1980-6841; 134).

1. Jornada científica – Evento. I. Berndt, Alexandre. II. Nogueira, Ana Rita de Araújo. III. Andri, Lea Chapaval. IV. Cavallari, Marcelo Mattos. V. Jacinto, Manoel Antônio Chagas. VI. Título. VII. Série.

CDD 21 630.72

© Embrapa 2019

Detecção do DNA de *Streptococcus agalactiae* em leite por meio da qPCR

Gabriela Camillo Muraro¹; Regiane de Fátima Travensollo²; Beatriz Cutilak Bianchi³; Thiago Ponotti Segato⁴; Rodrigo Gigliotti⁵; Lea Chapaval Andri⁶

¹Aluna de graduação em Medicina Veterinária, Centro Universitário Central Paulista, São Carlos, SP.; gabriela.muraro@hotmail.com;

²Pesquisadora da Empresa ParteCurae Pesquisa e Desenvolvimento Ltda, PCA, São Carlos, SP;

³Bolsa de Treinamento Técnico Três na ParteCurae Pesquisa e Desenvolvimento Ltda, PCA, São Carlos, SP;

⁴Aluno de Pós Doutorado do Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo, São Carlos, SP;

⁵Assistente Técnico de Pesquisa do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP;

⁶Pesquisadora em Microbiologia Molecular na Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP.

Na mastite subclínica *Streptococcus agalactiae*, é um agente frequentemente identificado e que determina, junto com *S. uberis* e *Staphylococcus* sp, maiores valores médios de células somáticas. Técnicas de microbiologia convencional que fazem o isolamento do agente microbiano e a identificação bioquímica levam em média dois a três dias, até mesmo semanas para o resultado. Em relação ao diagnóstico dos agentes causadores de mastites, ao nível internacional existe uma tendência crescente de utilização de ferramentas moleculares para o diagnóstico de patógenos, complementando, assim, os resultados obtidos na microbiologia clássica. A extração de DNA foi realizada empregando-se o Kit Easy (Invitrogen, EUA) seguindo o protocolo do fabricante e a partir de 50-300 μ L de cada amostra. A técnica utilizada para a quantificação de DNA de *S. agalactiae* foi baseada na utilização de iniciadores descritos por Forsman et al. (1997), adaptada para qPCR. Os oligonucleotídeos iniciadores usados neste trabalho flanqueiam o fragmento do gene rRNA operon com 280 pares de base (bp). Para preparar as reações de qPCR foi utilizado o kit SsoFast™EvaGreen® Supermix da BioRad (número de catálogo: #172-5200). O equipamento utilizado para o desenvolvimento da qPCR foi o CFX™ Real-Time PCR Detection Systems da marca BioRad. Para as padronizações dos testes de qPCR em tempo real, foram usadas amostras de DNA total extraídas de isolados de *S. agalactiae* gentilmente cedidas pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Neste estudo foi concluída a avaliação da eficiência (E) das reações de qPCR para quantificação do *S. agalactiae*, para as quais foi utilizado o par de iniciador STRA AgI (F)/ STRA AgII (R). Neste caso, a amplificação em triplicata de 8 concentrações distintas (10^{-4} a 10^{-11} , com fator de diluição de 10x) de DNA, obtidas pela diluição seriada de uma composição do alvo amplificado e clonado, gerou uma curva de calibração com R^2 igual a 0,998 e slope de -3,272. A partir deste valor de slope foi calculada a E da reação, 102,1%, que está dentro do intervalo aceitável para a qPCR. Foi encontrado neste cálculo um valor de três cópias para essa concentração, o que atesta a alta sensibilidade da qPCR para esta aplicação. Cadastro SisGen n°. A4AF0D5.

Apoio financeiro: Embrapa

Área: Ciências Biológicas

Palavras-chave: Mastite; *Streptococcus agalactiae*, qPCR, padronização