



## XXXV SALÃO de INICIAÇÃO CIENTÍFICA

6 a 10 de novembro

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2023: SIC - XXXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2023
<b>Local</b>	Campus Centro - UFRGS
<b>Título</b>	Desenvolvimento de primers e sonda para PCR quantitativa de <i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>
<b>Autor</b>	MARIA EDUARDA DIAS
<b>Orientador</b>	FRANCIELE MABONI SIQUEIRA

A bactéria *C. fetus* subsp. *fetus* (Cff) infecta humanos e animais por via oral. Em animais, pode migrar para o trato genital através da via hematogena, colonizando o trato reprodutivo e causando abortos em ovinos e esporadicamente em bovinos. Em vista da importância deste agente e da necessidade de um diagnóstico rápido e preciso, o objetivo deste estudo foi desenvolver *primers* e sonda para a Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR) para a identificação molecular de Cff. Os genomas completos de Cff e de *C. fetus* subsp. *venerealis* (Cfv), disponibilizados no GenBank, foram alinhados utilizando o *software* Artemis Comparison Tool. Os *primers* e sonda foram projetados a partir de uma região específica de Cff sem homologia com Cfv e validados *in silico* com os *softwares* PrimerBlast e OligoAnalyzer™ Tool. Para avaliar a especificidade *in vitro*, o produto de qPCR empregando o DNA de uma cepa referência de Cff foi purificado, sequenciado pelo método de Sanger e as fitas consenso geradas a partir do *software* Geneious foram analisadas na plataforma NCBI, apresentando 96% de identidade às sequências de Cff disponíveis publicamente. Ainda, foi realizada uma reação de qPCR empregando o DNA genômico total de Cfv, como uma segunda forma de validar a especificidade *in vitro* da reação, a qual não apresentou amplificação, confirmando que os *primers* e a sonda não são capazes de detectar Cfv. Construiu-se uma curva padrão através de reações de qPCR empregando diluições seriadas do DNA genômico total de Cff a fim de avaliar a sensibilidade *in vitro* do método. Foram detectadas concentrações de DNA variando de 0,0000061 a 0,61 ng/μL, equivalente à  $1 \times 10^1$  a  $1 \times 10^6$  cópias genômicas/μL, e eficiência de reação de 94%. Os resultados obtidos demonstram a eficiência dos *primers* e sonda elaborados, uma alta sensibilidade da reação testada e um amplo intervalo de amplificação.