

Detecção de *Campylobacter coli* e *C. jejuni* através de Multiplex-PCR

O gênero *Campylobacter* constitui-se por bactérias Gram negativas, microaerófilas, termofílicas, sendo as espécies *C. coli* e *C. jejuni* as mais frequentemente associadas com casos de gastroenterite humana. A principal via de transmissão é a ingestão de alimentos de origem animal, especialmente a carne de frango contaminada. A detecção das espécies de *Campylobacter* por métodos bacteriológicos é um procedimento que demanda bastante tempo, pois trata-se de uma bactéria fastidiosa e sua caracterização fenotípica muitas vezes é imprecisa. O estudo objetivou padronizar um protocolo de multiplex-PCR (mPCR) para detecção e identificação simultânea das espécies de *C. coli* e *C. jejuni*. Foram testadas diferentes concentrações de *primer* (15, 20, 25 pmol) e de cloreto de magnésio ($MgCl_2$) (1,5; 2,0; 2,5; 3,0 mM). As amostras foram coletadas dos cecos de frangos em um matadouro-frigorífico do Rio Grande do Sul. O DNA bacteriano foi extraído por termo-extração a partir de colônias de *Campylobacter spp.* isoladas em ágar mCCDA (*Modified Charcoal Cefoperazone Deoxycholate Agar*). Para o mPCR foram utilizados três pares de *primers* distintos em cada reação, sendo um específico para amplificação de um fragmento genômico de *C. coli* (462 pb), outro para *C. jejuni* (589 pb) e o outro para amplificar uma região comum entre *C. coli* e *C. jejuni* (857 pb). Utilizou-se duas cepas padrão como controle positivo na padronização do protocolo: *C. coli* (ATCC 43478) e *C. jejuni* (ATCC 29428). As análises dos produtos do mPCR foram feitas por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e corado com brometo de etídio. Os melhores resultados obtidos na padronização do mPCR foram com 20 pmol de cada *primer* e 1,5 mM de $MgCl_2$. O mPCR mostrou-se eficiente, pois possibilitou a detecção e identificação simultânea das duas espécies na mesma reação e poderá ser uma alternativa mais precisa para substituir os testes baseados na bacteriologia convencional para caracterização das espécies de *C. coli* e *C. jejuni*.