

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](http://www.embrapa.br/pecuaria-sudeste)

[www.embrapa.br/fale-conosco](http://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 Muraro<sup>1</sup>; Regiane de Fátima Travensollo<sup>2</sup>; Beatriz Cutilak Bianchi<sup>3</sup>; Thiago Ponotti Segato<sup>4</sup>; Rodrigo Gigliotti<sup>5</sup>; Lea Chapaval Andri<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup>Pesquisadora da Empresa ParteCurae Pesquisa e Desenvolvimento Ltda, PCA, São Carlos, SP;

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

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

<sup>5</sup>Assistente Técnico de Pesquisa do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP;

<sup>6</sup>Pesquisadora 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  $\mu$ 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