



# FEPEG

FÓRUM DE ENSINO,  
PESQUISA, EXTENSÃO  
E GESTÃO

TRABALHOS CIENTÍFICOS APRESENTAÇÕES ARTÍSTICAS E CULTURAIS DEBATES MINICURSOS E PALESTRAS

23 A 26 SETEMBRO DE 2015  
Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro

ISSN 1806-549X

A HUMANIZAÇÃO NA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

REALIZAÇÃO



APOIO



## PADRONIZAÇÃO DE METODOLOGIA MOLECULAR *IN HOUSE* PARA GENOTIPAGEM DE ISOLADOS DE *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Autor(es): Alessandra Rejane Ericsson de Oliveira, Angélica Alves de Moura Freitas, ANNA CHRISTINA DE ALMEIDA, Igor Viana Brandi

**Objetivo:** Desenvolver uma metodologia molecular *in house* para identificação genética de cepas presuntivamente identificadas como *Corynebacterium pseudotuberculosis* mantidas em laboratório.

**Metodologia:** Onze isolados foram inoculados em caldo *Brain Heart Infusion* (BHI) e incubados a 37°C. Após 24 horas de crescimento, os isolados foram inoculados em placas de 90mm contendo meio BHI adicionado de Agar 1,5% e incubados a 37°C durante 24 horas. As colônias crescidas nas placas e identificadas como bacilos Gram-positivos foram submetidas à extração de DNA com o kit KAPAExtract<sup>®</sup> conforme recomendações do fabricante. Os DNAs extraídos foram quantificados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e em seguida submetidos à reação de PCR multiplex com oligonucleotídeos específicos para o gênero *Corynebacterium* e espécie *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Os amplicons gerados foram analisados pela metodologia de eletroforese em gel de agarose 2%. **Resultados:** Nenhum dos isolados amplificou os genes alvos para gênero e ou espécie específico esperado para *C. pseudotuberculosis*. O controle positivo, cepa genotipada de *C. pseudotuberculosis* CIP102968 amplificou os fragmentos de 813 e 201 pares de base correspondente aos genes *16S RNA* ribossomal (gênero específico) e *fosfolipase D* (espécie específico) respectivamente. O controle negativo, *Escherichia coli* ATCC<sup>®</sup> 25922 não amplificou os genes em questão conforme esperado. **Conclusão:** Os resultados obtidos evidenciaram a necessidade de melhoria nas técnicas de coleta e identificação microbiológicas padrão das amostras uma vez que estas antecedem a etapa de identificação molecular e são de extrema importância a correta identificação genotípica das cepas de *C. pseudotuberculosis*.