**Avaliação de ensaios de diagnóstico molecular para a deteção de *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis* em amostras prepuciais bovinas**

Marta F. Silva1,2, Ana Duarte2, Gonçalo Pereira2, Luísa Mateus2, Luís Lopes da Costa2, Elisabete Silva2

1Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona, Lisboa, Portugal

2CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

**Objectivos:** Este estudo teve como objetivo comparar ensaios de PCR em tempo real para deteção de *C. fetus* subsp. *venerealis*, o agente patogénico responsável pela campilobacteriose genital bovina, em 308 amostras prepuciais.

**Materiais e métodos:** A deteção ao nível da subespécie (*C. fetus* subsp. *venerealis*) foi avaliada em quatro ensaios de PCR em tempo real, dois direcionados para a sequência de inserção ISCfe1 e dois para o gene *parA*. A deteção ao nível da espécie (*C. fetus*) envolveu um ensaio direcionado para o gene *nahE* e um kit comercial de PCR em tempo real (LSI VetMAXTM C. fetus kit, Life Technologies).

**Resultados:** Na deteção ao nível da subespécie, os ensaios direcionados quer para diferentes alvos (*parA* e ISCfe1), quer para o mesmo alvo molecular mostraram uma elevada percentagem de resultados discordantes nas amostras analisadas. Por outro lado, todas as amostras positivas nestes ensaios (n=169) revelaram-se negativas nos ensaios de deteção de *C. fetus*, o que sugere a transferência horizontal destes alvos de subespécie para outras espécies bacterianas. A análise da discrepância entre os resultados obtidos na deteção dos alvos de espécie e subespécie levou à descoberta de uma nova espécie do género *Campylobacter* no prepúcio de touros, denominada de *Campylobacter portucalensis*. Foram isoladas três estirpes de *C. portucalensis* com sequências com elevada identidade com a sequência ISCfe1 e *parA,* as quais foram identificadas como responsáveis pelos resultados falso-positivos nos ensaios de deteção de *C. fetus* subsp. *venerealis*.

**Conclusões:** Este estudo demonstrou que os métodos moleculares direcionados para os alvos mais comumente usados na identificação de *C. fetus* subsp. *venerealis*, incluindo o gene *parA* e a sequência de inserção ISCfe1, podem originar uma elevada taxa de resultados falso-positivos. Esta falha de especificidade poderá dever-se à presença de sequências homólogas no genoma de outras espécies bacterianas, tal como foi evidenciado em *C. portucalensis.*

**Palavras-chave:** *Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*; Campilobacteriose Genital Bovina; *Campylobater portucalensis*; Diagnóstico molecular.

**Financiamento:** Este estudo foi financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) através do projetoPTDC/CVT-CVT/30145/2017, co-financiado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER). Este trabalho também foi financiado pelo Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (Projeto UIDB/00276/2020).