



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2014
<b>Local</b>	Porto Alegre
<b>Título</b>	Desenvolvimento de PCR em Tempo Real para detecção de isolados de Escherichia coli associados à colibacilose aviária
<b>Autor</b>	VINICIUS PROENÇA DA SILVEIRA
<b>Orientador</b>	NILO IKUTA
<b>Instituição</b>	Universidade Luterana do Brasil

A bactéria *Escherichia coli* é o agente etiológico da colibacilose, doença relacionada com grandes prejuízos na avicultura. O diagnóstico laboratorial da doença se baseia no isolamento de bactérias patogênicas (denominadas APEC, *avian pathogenic E. coli*) a partir de amostras de órgãos e tecidos de aves com sinais clínicos de colibacilose. No entanto, este procedimento é dificultado devido à presença de cepas não patogênicas desta mesma espécie na microflora do trato intestinal normal das aves (denominadas AFEC, *avian fecal E. coli*). Com a utilização das técnicas de biologia molecular é possível detectar genes associados à patogenicidade, possibilitando a identificação de isolados de APEC. Trabalhos anteriores estabeleceram o diagnóstico com a detecção de cinco genes específicos (*ompT*, *hlyF*, *iroN*, *iutA* e *iss*) pela reação em cadeia da polimerase com análise do resultado por eletroforese em gel (PCR convencional). O presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de testes de detecção por PCR em tempo real destes cinco genes. Foi obtido um painel de 111 isolados de *E. coli*, a partir de amostras (órgãos) coletadas de aves de produção industrial (galinhas e perus) com suspeita de colibacilose. Tais amostras foram provenientes de diferentes regiões do Brasil, sendo cedidas por laboratórios de empresas avícolas após isolamento nos anos de 2010 e 2011. Os testes de PCR convencional foram realizados conforme previamente estabelecido. Paralelamente, iniciadores (*primers*) e sondas (*probes*) específicos para os genes *ompT*, *hlyF*, *iroN*, *iutA* e *iss* foram desenhados e utilizados no desenvolvimento dos testes de amplificação por PCR em tempo real. A extração do DNA foi realizada através do método de adsorção em sílica, e as amplificações foram realizadas em formatos simples (único alvo - *iss*) e duplex (dois alvos - *hlyF/ompT* e *iroN/iutA*). Os resultados demonstraram que os cinco genes foram detectados com sucesso pela PCR em tempo real (simples e duplex). A análise dos 111 isolados apresentou uma concordância completa na detecção pelos dois métodos, sendo que 61 (55%) isolados de *E. coli* brasileiros foram identificados como APEC e os demais 50 (45%) como AFEC. Em conclusão, a PCR em tempo real apresentou exatamente o mesmo desempenho analítico da PCR convencional para a diferenciação de APEC e AFEC. Assim os testes de PCR em tempo real podem ser utilizados na detecção de isolados de APEC, com a vantagem de serem mais rápidos, práticos e precisos do que a PCR convencional.