

019

DETECÇÃO DE BRUCELLA SP. PELA PCR DUPLA A PARTIR DE DIFERENTES TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE DNA. Lavicie Rodrigues Arais, Bruno Garin-Bastuji, Marisa da Costa (orient.) (UFRGS).

A detecção de DNA de microrganismos pela PCR a partir de material biológico constitui-se em um problema devido a presença inibidores presentes nestes materiais. Várias técnicas de extrações de DNA devem ser utilizadas para eleger aquela que elimina os inibidores mantendo uma boa sensibilidade. Assim o objetivo deste trabalho é testar duas técnicas de extração de DNA a fim de eleger aquela que será utilizada na detecção de *Brucella* sp. de soros animais. Foram contaminados artificialmente amostras de soros caninos negativos para brucelose com DNA de *Brucella* em concentrações decrescentes (4, 1, 0.25 e 0.1 µg de DNA /mL de soro). Estes soros, juntamente com soros negativos, estão sendo extraídos por duas técnicas extração de DNA: fenol-clorofórmio-álcool isoamílico e isotiocianato de guanidina. Os extratos estão sendo testados pela PCR dupla utilizando oligonucleotídeos iniciadores específicos para o gene IS7116501/711. Também estão sendo utilizados para a PCR soros não extraídos. São utilizados 1µL de cada extrato ou soro na reação. Até o momento a PCR utilizando os extratos obtidos com o fenol-clorofórmio-álcool isoamílico e os soros não extraídos têm mostrado resultados positivos principalmente após a segunda amplificação, demonstrando a presença de inibidores durante a primeira amplificação principalmente com os soros não extraídos. Têm se observado problemas de repetibilidade na PCR após a primeira amplificação provavelmente devido aos esmos inibidores. Os extratos com isotiocianato de guanidina não foram testados até o momento. Apoio: BIC Fapergs e BIC Propesq.