

264

TESTE DIRETO DA REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE (DT-PCR) PARA O DIAGNÓSTICO DE MENINGITE CAUSADA POR *HAEMOPHILUS INFLUENZAE*. Luciana Weidlich, Ludmila F. Baethgen, Camile Moraes, Márcia S.N. Silva; Sílvia Rios, Maria L. Rossetti, Arnaldo Zaha (Laboratório Central do Rio Grande do Sul – LACEN/RS; Centro de Biotecnologia- UFRGS).

Haemophilus influenzae do tipo b é uma das principais bactérias causadoras de meningite em todo o mundo. No Rio Grande do Sul, ocorrem aproximadamente 100 casos da doença por ano. Estamos desenvolvendo um método alternativo de diagnóstico utilizando PCR, uma vez que os métodos convencionais são inespecíficos ou pouco sensíveis. Para a padronização do método, utilizamos *primers* que amplificam o gene *bexA* e testamos trinta amostras de líquido de pacientes com suspeita da doença. Vinte e uma destas demonstraram resultado positivo nos testes imunológicos de aglutinação em látex e contra-imunoeletroforese, sendo 9 amostras negativas. Os líquidos foram adicionados diretamente na reação de PCR e a *Taq* DNA polimerase foi adicionada depois de 3 ciclos a 96°C por 3 min e 55°C por 3 min, para o rompimento da parede celular e exposição do DNA. Para a amplificação, realizou-se 25 ciclos de 94°C por 1 min, 58°C por 1 min e 72°C por 1 min e um ciclo adicional de 72°C por 10 min. Os resultados da PCR foram: 17 amostras positivas para a presença de DNA de *H. influenzae* e 13 amostras negativas, demonstrando 81% de sensibilidade e 100% de especificidade. As amostras utilizadas são do ano de 1997, e o longo período de estocagem pode ter degradado o DNA. A especificidade dos *primers* foi testada, amplificando o DNA de outras 8 bactérias causadoras de meningite, e a única banda visualizada foi para *H. influenzae*. Uma análise preliminar demonstrou que esta metodologia é simples, rápida e específica para o diagnóstico laboratorial de *H. influenzae*, podendo ser uma ferramenta útil principalmente nos casos em que o paciente já iniciou o tratamento. Um número maior de amostras deve ser testado para avaliar a acurácia do método para sua utilização como diagnóstico. (CNPq/PIBIC/UFRGS).