

Sessão 11

Diagnóstico Laboratorial II

094

DETECÇÃO DE DNA DE BRUCELLA PELA PCR EM SOROS CANINOS. *Ligia Vecchi de Oliveira, Lavicie Rodrigues Arais, Sylvie Hénault, Bruno Garin-Bastuji, Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso, Marisa da Costa (orient.)* (Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, UFRGS).

A brucelose canina, causada por *Brucella canis*, está presente em vários países. Esta zoonose causa grandes prejuízos quando introduzida em aglomerações de animais pela perda por abortos e infertilidade. Esta bactéria pode ser transmitida ao homem quando este entra em contato com as secreções dos animais infectados. Em estudos anteriores foi verificada uma prevalência relativamente alta de brucelose canina em Porto Alegre (RS) pelo teste de imunodifusão dupla. Outra alternativa para diagnosticar esta infecção é comprovando a presença de *Brucella* nestes animais. Para tanto será utilizada a técnica de PCR com dois pares de oligonucleotídeos iniciadores para o gene da seqüência de inserção IS6501/711 específica do gênero *Brucella*. Foi feita a padronização da técnica de PCR quanto a concentração de MgCl₂ e temperatura ideal de anelamento para os testes de amplificação simples e dupla (nested-PCR). Para a amplificação simples com os oligonucleotídeos IS1/2 as condições ideais foram de 1, 5mM a 60°C e para a amplificação dupla, as condições ideais para os oligonucleotídeos IS3/4 foram de 3mM a 55°C. Um par de oligonucleotídeos controles de reação (BS1/2) também foi testado e as condições ideais foram de 2mM a 55°C e 1, 5mM a 60°C. Foi testada até o momento, a sensibilidade da PCR com os três pares de oligonucleotídeos com DNA purificado de duas amostras de brucela (*B. abortus* e *B. ovis*) que possuem quantidades diferentes do gene da seqüência de inserção. A PCR com os pares de oligonucleotídeos IS1/2 e IS3/4 foi capaz de detectar até 1 tipograma de DNA, na reação, com as amostras testadas. Com o par de oligonucleotídeos BS1/2 a PCR foi capaz de detectar até 1 tipograma de DNA no programa com temperatura ideal de anelamento de 55° C, com as duas amostras testadas, e no programa com temperatura ideal de anelamento de 60°C, até 1 atograma de DNA para a amostra de *B. abortus* e até 1 tipograma de DNA para a amostra de *B. ovis*.