

VIII ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

IDENTIFICAÇÃO DOS GENOTIPOS DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* EM AMOSTRAS CLÍNICAS POR PCR EM TEMPO REAL

Fukasawa LO, Salgado MM, Gonçalves MG, Custódio AV, Araújo TP, Sacchi CT

Seção de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil – e-mail: lucilaof@gmail.com

Haemophilus influenzae (Hi) é uma das principais bactérias causadoras de meningites bacterianas. A sua cápsula polissacarídica é seu principal fator de virulência e suas diferenças bioquímicas e antigênicas classificam a bactéria em 6 diferentes sorotipos: a, b, c, d, e, f. A identificação dos sorotipos de Hi é de extrema relevância para as ações da Vigilância Epidemiológica, permitindo a avaliação da eficácia da vacina contra o Hi do sorotipo b (Hib) presente no Programa Nacional de Imunização e o monitoramento dos sorotipos circulantes no país. O objetivo do presente trabalho foi padronizar e avaliar o uso da técnica de PCR em tempo real (RT-PCR) para identificar os 6 genotipos de Hi diretamente em amostras clínicas (líquido cefalorraquidiano-LCR). Foram padronizadas 6 reações de RT-PCR em formato “single”, tendo o *cap* como gene alvo. Foram empregados iniciadores e sondas específicos para cada um dos genotipos de Hi. As reações de RT-PCR foram realizadas em sistema TaqMan[®], sendo empregadas concentrações de iniciadores variando de 300 a 900 nM e temperaturas de anelamento variando de 56 a 60°C. Estas reações foram empregadas para identificar os genotipos de Hi de amostras clínicas previamente positivas para esta bactéria por RT-PCR. Foram analisadas 27 amostras de LCR positivas para o gene *bexA* de Hi por RT-PCR provenientes do município de São Paulo durante o ano de 2008. Entre as amostras analisadas, 78% foram positivas para o genotipo b (Hib), 11% para o genotipo a (Hia) e 11% foram não-genotipáveis (negativas pelas 6 reações de RT-PCR). Os resultados do presente trabalho indicaram que: (a) a técnica de RT-PCR pode ser empregada na identificação rápida dos genotipos de Hi diretamente de amostras clínicas; (b) o genotipo b (Hib) foi o mais prevalente entre as amostras analisadas.