

VIII ENCONTRO DO INSTITUTO ADOLFO LUTZ

PCR EM TEMPO REAL PARA O DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS PNEUMONIAS BACTERIANAS

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

Seção de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil – e-mail: mmsalty2002@yahoo.com.br

O diagnóstico laboratorial das pneumonias bacterianas através da cultura para a identificação de *Streptococcus pneumoniae* (Spn) e *Haemophilus influenzae* (Hi) apresenta limitações que dificultam o diagnóstico definitivo, devido à pouca sensibilidade em amostras nas quais há baixas concentrações do agente ou presença de antibiótico. A identificação destes agentes é de extrema importância, pois permite a ação imediata do clínico e esclarece o caso para as autoridades em Saúde. Este trabalho teve como objetivo avaliar a metodologia da PCR em tempo real (RT-PCR) para a detecção destes dois agentes diretamente em amostras clínicas de líquido pleural (LP) e soro em um único ensaio. A RT-PCR foi feita com iniciadores e sondas específicas para o gene *lytA* do Spn e o gene *bexA* do Hi. A sensibilidade do teste foi determinada através do limite mínimo de detecção (LMD) com DNA extraído, purificado e dosado destes agentes. A extração e purificação do DNA foram feitas utilizando-se kit comercial de colunas de sílica. O LMD encontrado para Spn foi de 200fg e de 20fg para Hi. Das 59 amostras testadas por RT-PCR, 22 (37%) foram positivas para Spn (LP=21; Soro=1), 3 (5%) para Hi (LP=1; Soro=2) e 34 (58%) foram negativas (LP=8; Soro=26). A RT-PCR mostrou-se sensível para a detecção destes agentes e seu uso na rotina diagnóstica das pneumonias bacterianas é aconselhável visto que a técnica de contraímuno-elektroforese disponível na Instituição e LACENs do país não detecta o Spn, além de apresentar reatividade cruzada com Hi, necessitando de confirmação adicional por outra metodologia. O teste do Látex é uma alternativa diagnóstica, porém seu alto custo inviabiliza o uso para o SUS, tornando a RT-PCR mais viável.