

Nicolaiewsky, I. Hötzel, E.R. Azzulin, N. Ikuta, A.S.K. Fonseca, V.R. Lunge. (SIMBIOS-Biotecnologia; Centro de Biotecnologia/UFRGS)

Os métodos de detecção tradicionais de *Vibrio cholerae*, agente etiológico da cólera, em amostras biológicas (clínicas e de alimentos) e ambientais (águas, esgotos, etc.) necessitam 5 dias ou mais para confirmação do diagnóstico. Com este trabalho, foi desenvolvido um método genético rápido e conclusivo, utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase com o uso de múltiplos pares de iniciadores ("Multiplex PCR"), para a detecção de isolados potencialmente toxigênicos e não toxigênicos no mesmo ensaio. A partir da análise de bancos de dados de seqüências de DNA, foram desenhados pares de iniciadores ("primers") homólogos ao operon da toxina e ao gene da proteína de membrana externa V (*ompV*) de *V. cholerae*. Amostras de DNA de cultura pura e de isolados de *V. cholerae* e bactérias correlatas foram obtidas pela lise das células. Ensaio de especificidade e sensibilidade foram realizados através de protocolos padrão de amplificação por PCR. Os produtos de amplificação foram visualizados em luz ultravioleta após eletroforese em gel de agarose corado com brometo de etídio. Os resultados mostram que ambos pares de iniciadores são específicos para *V. cholerae*. Além disso, o uso dos iniciadores específicos para o gene *ompV* permitiram a amplificação de DNA de isolados toxigênicos e não toxigênicos de *V. cholerae*, enquanto os iniciadores para o gene da toxina permitiram a amplificação apenas dos isolados toxigênicos. A partir destes resultados, utilizou-se os 2 pares de iniciadores no mesmo ensaio (Multiplex PCR) permitindo a detecção de *V. cholerae* e o diagnóstico diferencial de isolados toxigênicos e não toxigênicos. (CNPq, SIMBIOS-Biotecnologia)