

## **DETERMINAÇÃO DA SENSIBILIDADE DA TÉCNICA DE AMPLIFICAÇÃO DO DNA BACTERIANO EM LÍQUIDO DE ASCITE.**

*Vieira, S., Barth, A., Matte, U., Ferreira, C., Taniguchi, A., Silveira, T. Serviço de Pediatria/setor de Gastroenterologia; Laboratório de Pesquisa Biomédica/HCPA. HCPA.*

Fundamentação: a infecção do líquido de ascite é a complicação infecciosa mais característica da hepatopatia crônica, associada a prognóstico bastante reservado. Os métodos diagnósticos habitualmente utilizados para identificação desta condição são pouco consistentes e prossegue na literatura, a busca de técnicas mais apropriadas.

Objetivo: determinar a sensibilidade da técnica de amplificação do DNA bacteriano (PCR) no líquido de ascite de crianças e adolescentes com hepatopatia crônica.

Material e métodos: a reação de PCR foi feita utilizando primers universais para o gene do rRNA 16S bacteriano. A determinação da sensibilidade visava a identificar a menor quantidade de unidades formadoras de colônias (UFC)/ml detectada pelo método em estudo. A técnica compreendeu duas etapas: a primeira em água estéril e a segunda em líquido de ascite estéril (contagem de polimorfonucleares < 1 e cultura negativa). Foram 250 céls./ testadas diluições seriadas de suspensão bacteriana nas concentrações de 10<sup>8</sup> a 10<sup>1</sup>, em intervalos de 10, utilizando-se bactérias *Escherichia coli* ATCC, diluídas em 1 ou 10 ml de água estéril e 10 ml de líquido de ascite. A sensibilidade foi comparada entre amostras sem extração de DNA e utilizando extração com TRIZOLTM (Isotiocianato de Guanidina, Fenol-Clorofórmio).

Resultados: em água estéril, sem extração prévia de DNA, o limite de detecção foi 10<sup>6</sup> UFC/ml. Utilizando o kit de extração, foi possível aumentar a sensibilidade para 10<sup>5</sup>. Os mesmos resultados foram obtidos nas diluições em líquido de ascite, demonstrando a inexistência de fatores capazes de inibir a reação de PCR.

Conclusão: nas condições estudadas a sensibilidade da técnica foi baixa: 10<sup>5</sup> UFC/ ml. Não foi detectada a presença de inibidores da PCR em líquido de ascite. Faz-se necessário um aprimoramento da técnica visando melhorar a sua sensibilidade.