

459

**REDUÇÃO DO TEMPO DE IDENTIFICAÇÃO DE MICOBACTÉRIAS ATRAVÉS DE UTILIZAÇÃO DA AMPLIFICAÇÃO POR PCR DO GENE *hsp65* E DIGESTÃO POR ENZIMAS DE RESTRIÇÃO (PRA).**

*Dalziza V. Almeida*<sup>1, 2</sup>; *Ludmila Baethgen*<sup>2, 3</sup>; *Arnaldo Zaha*<sup>2, 3</sup> & *Maria Lúcia Rossetti*<sup>1</sup>. 1: Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – FEPPS / Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CDCT; 2: Centro de Biotecnologia – UFRGS; 3: Departamento de Bioquímica – UFRGS.

O gênero *Mycobacterium* compreende mais de 70 espécies, sendo que algumas espécies são estritamente patogênicas (*M. tuberculosis* e *M. leprae*) e outras potencialmente patogênicas (*M. avium*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. malmoens* e *M. kansasii*). No período de três meses foram selecionadas 113 amostras de micobactérias isoladas de pacientes, para a comparação dos resultados obtidos pela identificação bioquímica, realizada pelo Centro de Referência Professor Hélio Fraga (RJ), com a identificação molecular PRA (*PCR-Restriction Enzyme Analysis*). O trabalho teve com objetivo padronizar e adequar este método molecular na rotina laboratorial, com o intuito de reduzir o tempo de identificação das espécies e a necessidade de transporte de culturas para a confirmação dos resultados. O PRA baseia-se na análise do gene *hsp65*. Uma região de 439 pares de base do gene é amplificada por PCR e digerida com as enzimas de restrição *BstEII* e *HaeIII*. A análise é feita pelo padrão eletroforético dos fragmentos digeridos e o resultado é comparado com um banco de dados disponível na internet (<http://www.hospvd.ch:8005>). Das 63 amostras analisadas, 50 foram identificadas como *M. tuberculosis* pelos métodos convencionais e destas, 19 eram sensíveis a todas as drogas do tratamento e 31 eram multi-droga resistentes. Treze amostras foram consideradas micobactérias atípicas. Três amostras apresentaram resultados discrepantes. Estas amostras de DNA foram submetidas a amplificação com *primers* específicos para *M. tuberculosis* e *M. avium* e o resultado obtido concordou com o PRA. A metodologia padronizada demonstrou que é possível a diferenciação rápida das espécies de micobactérias, uma vez que os padrões de fragmentos encontrados concordam em 95,2% com os resultados obtidos pela metodologia bioquímica de identificação. CNPq, Fapergs, CDCT/FEPPS.