

## **MICROBIOLOGIA E IMUNOLOGIA**

### **OTIMIZAÇÃO DE UM ENSAIO ONE-STEP DUPLEX REAL-TIME RT-PCR PARA DETECÇÃO DE VÍRUS INFLUENZA EM ASPIRADOS DE NASOFARINGE**

CAROLINE BECK; FERNANDA DE-PARIS, ALICE BEATRIZ MOMBACH PINHEIRO MACHADO, RODRIGO MINUTO PAIVA, DENISE DA SILVA MENEZES, LUCIANA DE SOUZA NUNES, RICARDO DE SOUZA KUCHENBECKER, AFONSO LUIS BARTH

Introdução: A vigilância de infecções respiratórias causadas por vírus é importante para o manejo de epidemias sazonais, definição de grupos de risco e alocação de recursos hospitalares. Estas infecções respiratórias demandam diagnóstico laboratorial eficiente para direcionar ações de manejo destes pacientes. Neste trabalho, foi desenvolvido um ensaio one-step duplex real-time RT-PCR para otimizar a eficiência do diagnóstico de Influenza A/B em infecções respiratórias agudas. Materiais e Métodos: Foram selecionadas 219 amostras de aspirado de nasofaringe coletadas e submetidas à imunofluorescência indireta (IFI) para pesquisa de vírus respiratórios durante o ano de 2010. As amostras foram submetidas à extração do RNA viral utilizando kit comercial (QIAmp RNA viral – Qiagen). A amplificação foi direcionada ao gene que codifica a proteína da matriz do Influenza A (FluA) e hemaglutinina do Influenza B (FluB), utilizando sondas do tipo TaqMan com marcações fluorescentes FAM e VIC respectivamente. O equipamento utilizado foi o SDS 7500 da Applied Biosystems. As amplificações foram realizadas separadamente e simultaneamente (duplex) para teste de desempenho de cada ensaio. Resultados e Conclusões: O ensaio do tipo duplex apresentou bom desempenho e foi adotado para a triagem das 219 amostras. O ensaio IFI detectou apenas 2 amostras FluB enquanto o one-step duplex real-time RT-PCR detectou 3 amostras FluB e 3 amostras FluA. Assim, o ensaio de PCR em tempo real aumentou significativamente a detecção de vírus influenza nas amostras testadas. Portanto, este ensaio mostrou-se eficiente e de fácil execução, podendo ser utilizado tanto como teste laboratorial para diagnóstico em infecções respiratórias, como para auxiliar na vigilância epidemiológica do vírus Influenza.