

PROPAGAÇÃO DE CAR (Cilia-associated respiratory) BACILLUS EM CULTURA DE CÉLULAS E PADRONIZAÇÃO DA REAÇÃO DA POLIMERASE EM CADEIA COM TRANSCRIÇÃO REVERSA (RT-PCR)

Lenira Aparecida Guaraldo de Andrade, Daniele Masselli Rodrigues Demolin, Sandra Soares Martins, Luiz Augusto Correa Passos, Delma Pegolo Alves, Rovilson Gilioli.¹
CEMIB, IB/UNICAMP

Resumo

CAR bacillus é uma bactéria extracelular, gram negativa, que está associada à doença respiratória em colônias convencionais de camundongos e ratos. O objetivo deste estudo foi realizar a padronização do RT-PCR a fim de detectar a infecção por CAR bacillus em colônias de ratos e camundongos. A cepa CB-M proveniente do CIEA (Japão) foi utilizada nos experimentos. Células murinas 3T3 fibroblastóides foram infectadas e quando do aparecimento de efeito citopático, congeladas. A bactéria foi visualizada através da coloração pela prata. Grupos de camundongos foram infectados através de inoculação intranasal e amostras de swabs oral, nasal, traquéia e pulmão foram coletadas nos dias 7,12,15,19,28 após a infecção. O RNA foi extraído usando TRIzol para posterior amplificação. Primers específicos foram testados sob diferentes concentrações. Os soros foram submetidos à imunofluorescência indireta para a detecção de anticorpos, através de células 3T3 infectadas. A presença da bactéria na suspensão celular foi confirmada através do RT-PCR e o produto amplificado de 133 pares de base observado. Resultados positivos no RTPCR dos pulmões foi obtido nos dias 15,19 e 28 pós infecção e anticorpos após 8 semanas.

Palavras-chaves

CAR bacillus. RT-PCR. RNA.

¹ E-mail: lenira@cemib.unicamp.br

Res. trab. do SimTec: Simpósio dos Profissionais da UNICAMP, Campinas, SP, v.2, p.209, 2008.