

Comparação de duas metodologias na detecção de DNA de *Mycobacterium tuberculosis*

BELLO, Grazielle Lima¹; ROSSETTI, Maria Lucia²
¹ Graduação Biomedicina/ULBRA; ² PPGTA/ULBRA

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma das doenças infecciosas mais antigas da história da humanidade e ainda é considerada um dos maiores problemas de saúde pública em nosso país. Seu agente etiológico é *M. tuberculosis*. Estima-se que 44,5% do total de novos casos bacilíferos de TB no Brasil estão na região sudeste. Estudos recentes têm mostrado que cepas de *M. tuberculosis* multirresistentes aos principais fármacos vêm aumentando (TB-MDR). O diagnóstico rotineiro é realizado através do método bacteriológico (baciloscopia e cultura), no entanto, investir em técnicas de diagnóstico molecular para diagnosticar e tratar de maneira mais rápida, sensível e específica os casos de TB pulmonar pode ser uma alternativa promissora para o controle da doença.

OBJETIVO

Comparar dois métodos de detecção de DNA de *M. tuberculosis* após amplificação por PCR (PCR convencional e PCR-ELISA) extraído diretamente de lâminas de baciloscopia.

METODOLOGIA

O DNA foi amplificado pela técnica de PCR com *primers* biotinilados do elemento de inserção IS6110.

A partir do produto amplificado, foram feitos dois tipos de detecção:

A) PCR CONVENCIONAL: eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio para visualização de fragmentos de 245 pb.

B) PCR-ELISA: detecção colorimétrica realizada em microplacas sensibilizadas com sondas específicas para posterior reação enzimática para determinação de absorvâncias por espectrofotometria.

RESULTADOS

Foram analisadas 110 amostras. De um total de 21 amostras positivas, 17 foram positivas na PCR convencional e 9 na PCR-ELISA. Das negativas, 85 também foram negativas na PCR convencional e 88 na PCR-ELISA. Portanto, as sensibilidades e especificidades observadas na corrida eletroforética foram 80% e 95%, respectivamente; na detecção em microplacas foram 42% e 98%, respectivamente.

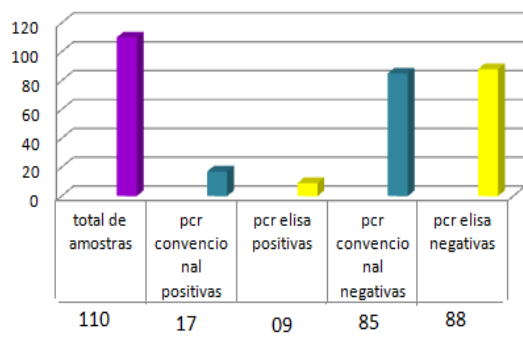


Fig. 1 – Gráfico com a comparação dos resultados das análises.

1 2 3 4 5 6 7 8 9

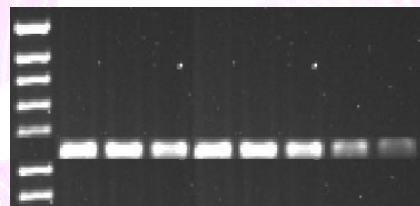


Fig. 2 - Eletroforese em gel de agarose 1,5%. Visualização da detecção por PCR convencional. Canaleta 1 corresponde ao ladder; canaletas 2 a 9 correspondem a amostras de pacientes com produto amplificado de 245pb de IS6110 do genoma da micobactéria.

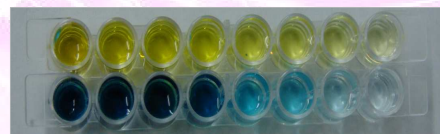


Fig. 3 - Microplaca sensibilizada com sonda e após a reação de hibridização e reação enzimática (PCR-ELISA).

CONCLUSÃO

Os dados demonstraram que o método de PCR convencional poderia ser utilizado na rotina de diagnóstico de TB, uma vez que é mais simples que outros e possui sensibilidade maior que a baciloscopia e especificidade similar, auxiliando em um diagnóstico mais rápido e um tratamento precoce eliminando os riscos de transmissibilidade.

BIBLIOGRAFIA

- 1.TEO, Jeanette e cols. Comparison of Two Nucleic Acid Amplification Assays,the XpertMTB/RIF Assay and the Amplified Mycobacterium Tuberculosis Direct Assay, for Detection of *Mycobacterium tuberculosis* inRespiratory and Nonrespiratory Specimens; 2011.
- 2.MICHELON, Candice Tosi e cols. Colorimetric microwell plate reverse-hybridization assay for Mycobacterium tuberculosis detection, 2011.