

## Análise da utilização de um método molecular para detecção de *M. tuberculosis* na rotina de diagnóstico de Tuberculose Pulmonar.

BELLO, Grazielle Lima<sup>1</sup>; ROSSETTI, Maria Lucia<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduação Biomedicina/ULBRA; <sup>2</sup> PPGBiosaúde/ULBRA; CDCT/FEPPS

### INTRODUÇÃO

A Tuberculose (TB), que tem por seu agente etiológico a bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, é a doença infectocontagiosa considerada como prioridade pelo Governo Federal do Brasil, estando contemplada nas principais pactuações nacionais. Porto Alegre é a primeira capital do país em taxa de incidência, são 104,6/100 mil habitantes e, Canoas está em segundo lugar na taxa de incidência dos municípios prioritários do Estado. O diagnóstico de tuberculose pulmonar tem como padrão de referência o diagnóstico microbiológico (baciloscopia e/ou cultura positivas). No entanto, na maioria dos locais, apenas a baciloscopia, que detecta em torno de 50% dos doentes é realizada.

### OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi analisar os resultados da utilização de um método molecular de identificação de DNA de *M. tuberculosis* diretamente de amostras clínicas de escarro coletadas no setor de fisiologia no município de Canoas.

### METODOLOGIA

A técnica foi realizada com todos os reagentes necessários desde a etapa de extração até a detecção do DNA preparados no formato de um protótipo de kit. O DNA foi extraído utilizando resina de sílica. A etapa de hibridização foi feita por reação colorimétrica em placas de ELISA previamente sensibilizadas com sondas específicas do elemento de inserção IS 6110 do genoma. A detecção foi realizada por hibridização reversa com o produto amplificado da PCR. Os resultados foram comparados com a cultura.

### RESULTADOS

Foram analisadas 126 amostras. Do total de 24 amostras positivas em cultura, 18 mostraram-se positivas também no método molecular. Das 102 amostras negativas, 91 também foram negativas ao uso do kit. Portanto, os valores de sensibilidade e especificidade do teste foram 75 e 89%, respectivamente. Comparando os resultados de baciloscopia com as culturas, a sensibilidade foi de 50%.



Fig 1, 2 e 3 – microplaca após reação colorimétrica ; no centro, tubo de cultura positiva para *M. tuberculosis*; e, à direita, lâmina de baciloscopia.

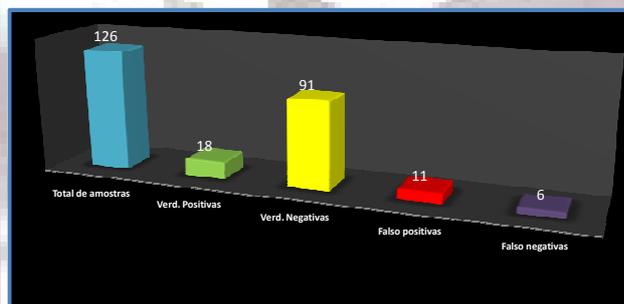


Fig 4- ilustração gráfica dos resultados da aplicação do método molecular colorimétrico.

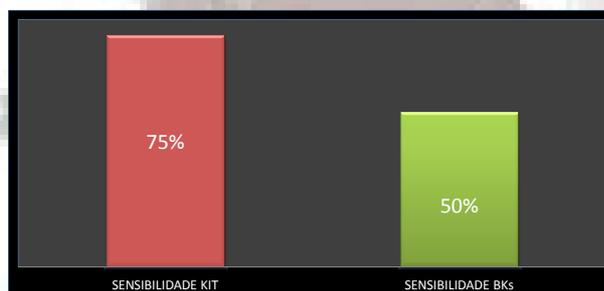


Fig 5- ilustração gráfica da comparação entre as sensibilidades do método de rotina (baciloscopia) e o método molecular empregado nas análises.

### CONCLUSÃO

Através da análise dos resultados obtidos, foi possível constatar que a utilização desta metodologia na rotina do diagnóstico de TB poderia ser uma alternativa para melhorar a detecção da doença, uma vez que a baciloscopia carece de sensibilidade.

### REFERÊNCIAS

>>MICHELON, C. T., ROSSO, F., SCHMID, K. B., SPERHACKE, R. D., OLIVEIRA, M. M., KRITSKI, A. L., REZENDE, R. JR., DALLA COSTA, E. R., RIBEIRO, A. W., VERZA, M., CAFRUNE, P. I., SILVA, M. S. N., KUHLEIS, D., ZAHA, A., ROSSETTI, M. L. R. 2011. Colorimetric microwell plate reverse-hybridization assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection. Mem Inst Oswaldo Cruz, 106:194-199.

>>VAN DOORN, H. R., BRUIJNSTEIJN VAN COPPENRAET, E. S., DUIM, B., VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M., WEEL, J. F., DANKERT, J., KUIJPER, E. J., DE JONG, M. D. 2006. Silica-guanidinium thiocyanate-based nucleic acid isolation protocol does not improve sensitivity of two commercial tests for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis., 25:673-675.