



## COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA DE *Mycobacterium tuberculosis* POR PCR EM TEMPO REAL

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

<sup>1</sup>Curso da Biomedicina, <sup>2</sup>PPGBiosaúde/Ulbra Canoas, RS

Contato:taina.soares@rede.ulbra.br

Palavras Chave: Tuberculose; Métodos de extração de DNA; Sonicação; Cartão FTA Elute; Diagnóstico por PCR.

A tuberculose (TB) está entre as 10 doenças que mais causam mortes no mundo. Em 2018, 10 milhões de pessoas desenvolveram TB ativa e 1,5 milhões vieram a óbito, sendo que 251.000 eram portadoras do vírus HIV. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), entre 2000 e 2018, cerca de 58 milhões de vidas foram salvas graças ao diagnóstico e tratamento da TB. No Brasil, em 2019, a doença atingiu 73.864 pessoas e 2,2 obitos/100 mil habitantes. O diagnóstico tradicional da TB é composto pelo exame bacteriológico, o qual engloba a baciloscopia e cultura do microrganismo, juntamente com exame radiológico e achados clínicos. A baciloscopia é um método menos laborioso, entretanto apresenta baixa especificidade e sensibilidade. A cultura ainda é considerada padrão-ouro, apresentando alta especificidade e sensibilidade. No entanto, a cultura é demorada (até 60 dias) para obtenção de resultados. O teste rápido (GeneXpertMTB/RIF) é um teste de amplificação de DNA e após a sua implantação em alguns laboratórios houve um aumento na detecção da doença. No entanto, é um teste de valor elevado para utilização na rotina da maioria dos laboratórios.

Diante deste panorama o desenvolvimento de testes de diagnóstico que sejam capazes de detectar a doença precocemente, de baixo custo e com uso descentralizado é de fundamental importância. Os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) tem potencial para cumprir essa finalidade, mas ainda precisam ser aperfeiçoados. Esses testes são altamente dependentes da

---

WHO. World Health Organization, 2019, **Global tuberculosis**. Disponível em: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. Acessado em 7 de Agosto de 2020.

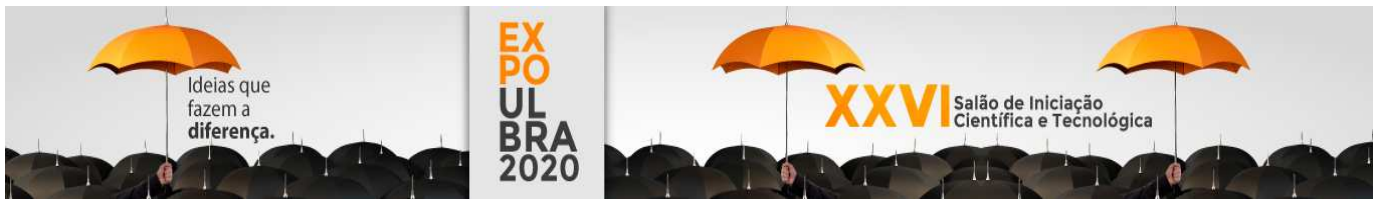
BRASIL. Ministério da Saúde, 2019. **Manual de recomendações para o controle da Tuberculose no Brasil**. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/marco/28/manual-recomendacoes.pdf>. Acessado em 7 de Agosto de 2020.

Bello GL, et al. **Improvement of Mycobacterium tuberculosis detection in sputum using DNA extracted by sonication**. Braz J Infect Dis. 2020. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867020301215?via%3Dihub>

ALI N, et al. **Current nucleic acid extraction methods and their implications to point-of-care diagnostics**, 2011 Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28785592>.

Acessado em 5 de Agosto de 2020.



qualidade e quantidade de DNA extraído das amostras clínicas. Portanto, o objetivo deste estudo foi comparar duas técnicas para extração de DNA para a detecção por PCR em tempo real (ensaio TaqMan) do alvo molecular (*IS6110*) de *M. tuberculosis* de amostras pulmonares de pacientes com diagnóstico de tuberculose pelo GeneXpertMTB/RIF e cultura. Foram analisadas 29 amostras de escarro com cada uma das técnicas de extração. Uma delas utilizava sonicação celular por ultrassom (protocolo 1) e a outra, a extração de DNA era a partir de amostra fixada em cartão FTA (protocolo 2). A sensibilidade e especificidade foram analisadas pela comparação com a cultura (padrão de referência). A concordância entre os métodos de extração de DNA (detectado por PCR em tempo real) foi  $k = 0,7$ , a concordância do GeneXpertMTB/RIF versus os protocolos 1 e 2, foi respectivamente  $k=0,7$  e  $k=0,8$ . A sensibilidade e a especificidade, quando o DNA foi extraído pelo cartão FTA, foram ambos de 100%. Quando o DNA foi extraído por sonicação, a sensibilidade e especificidade foram de 80 e 89%, respectivamente. Assim, foi possível observar que a extração de DNA a partir do cartão FTA foi mais sensível e específica que a sonicação para a detecção de DNA por PCR em tempo real, além de facilitar o transporte e o armazenamento das amostras.