

Validação de kit de diagnóstico molecular para detecção de *Mycobacterium tuberculosis* e identificação de genótipos potencialmente resistentes à rifampicina

Rafaela Ciotta Pires¹
Mirela Gehlen²
Maria Rita Castilhos Nicola³
Dra. Maria Lucia Rosa Rossetti⁴

Introdução

A tuberculose (TB) permanece como um grave problema de saúde pública no Brasil, atingindo aproximadamente 70 mil pessoas por ano (Brasil, 2022). A resistência aos fármacos utilizados no tratamento para TB é um dos grandes desafios no combate à doença (Carvalho *et al.*, 2007). Em 2010 foi aprovada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) a utilização do GeneXpert® MTB/RIF como teste rápido molecular (TRM) para diagnóstico inicial de TB e TB-MDR, através da PCR em tempo real, o teste identifica o *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) e sua resistência à rifampicina em um período de até duas horas (Helb *et al.*, 2010).

Objetivos

O objetivo do trabalho é a validação de um kit de diagnóstico molecular, desenvolvido pelo Instituto de Biologia Molecular do Paraná (IBMP) através da comparação com os resultados obtidos no GeneXpert® MTB/RIF Ultra.

Metodologia

Para a realização do teste molecular foram selecionadas 157 amostras clínicas de escarro provenientes do laboratório de análises clínicas do Hospital Universitário (HU) da Ulbra, localizado em Canoas/RS. A seleção das amostras foi baseada no volume disponibilizado do material biológico (acima de 1mL) e amostras que haviam sido realizadas a cultura (CBK). As amostras clínicas selecionadas foram tratadas com NaOH 4%, após foi realizada a extração do DNA através do kit HighPure PCR Template Preparation (Roche Life Sciences). Para a reação de qPCR, foi utilizado o kit IBMP Biomol MTB-MDR seguindo as recomendações do fabricante.

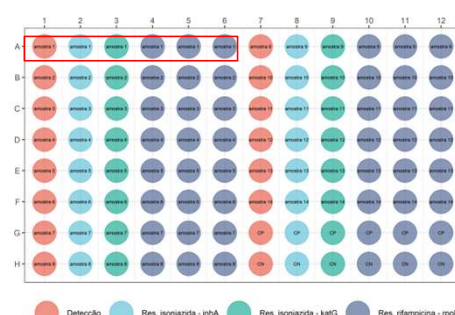


Figura 1. Esquema de distribuição dos mastermixes, controles e amostras na placa de 96 poços.

Resultados

Entre as 157 amostras de escarro de pacientes com suspeita de TB do HU/ULBRA, 97 amostras apresentaram resultado detectado no GeneXpert® MTB/RIF Ultra, 19 apresentaram resistência à rifampicina. Dessas resistentes, 11 amostras também foram resistentes no qPCR/IBMP para RIF.

Conclusão

As análises realizadas até o momento apresentaram uma sensibilidade de 91% e especificidade de 80%. Estes dados parciais permitem observar a possível utilização do teste molecular do IBMP para detecção rápida do *M. tuberculosis* e genes de resistência na saúde pública.

Referências

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Manual de Recomendações para o Diagnóstico Laboratorial de Tuberculose e Micobactérias não Tuberculosas de Interesse em Saúde Pública no Brasil. – Brasília: Ministério da Saúde, 2022

Carvalho, W. da S., Miranda, S. S. de., Pesquero, J. L., & Gomes, M. A.. (2007). Diagnóstico de resistência do *Mycobacterium tuberculosis* à rifampicina utilizando-se da reação em cadeia da polimerase. *Revista Brasileira De Ciências Farmacêuticas*, 43(1), 31–38. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322007000100004>

Helb D, Jones M, Story E, Boehme C, Wallace E, Ho K, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. *J Clin Microbiol.* 2020;48(1):229-37. <https://doi.org/10.1128/JCM.01463-09>

¹Aluno do curso de Biomedicina, Bolsista PIBIC/CNPq, rafaelaciotta@rede.ulbra.br

²Aluno do doutorado do PPGPneumologia/UFRGS, mirela.gehlen@ufrgs.com

³Aluno do doutorado do PPGBioSaúde/ULBRA, mcastilhosnicola@gmail.com

⁴Orientador, Professor do curso de Biomedicina e do PPGBioSaúde/ULBRA, maria.rossetti@ulbra.br