

Detecção de mutações nos genes *katG*, *rpoB* e *inhA* em *Mycobacterium tuberculosis*

Cristiana Alves Martins¹; Grazielle Lima Bello²; Natali Linck³; Marcia Susana Nunes Silva^{1,2,3,4} e Maria Lucia Rossetti^{1,2,3,4,5}

¹Curso de Graduação em Farmácia ULBRA; ²Curso de Graduação em Biomedicina ULBRA; ³Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular Aplicado à Saúde, ⁴FEPPS e ⁵Coordenadora do projeto.

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB), apesar de potencialmente curável, nunca deixou de ser um grave problema para a saúde pública, visto que, no Brasil, estima-se que mais de 50 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *Mycobacterium tuberculosis*, com aproximadamente cerca de 70 mil novos casos por ano. Atualmente, as ferramentas para detecção da resistência aos fármacos disponíveis na rede básica de saúde são laboriosas e demoradas, sendo comum ter que aguardar até mais de quatro semanas para obtenção do resultado. O desenvolvimento de novas técnicas para detecção da resistência aos fármacos possibilitaria um melhor direcionamento e por consequência, uma melhor resposta ao tratamento.

OBJETIVO

Avaliar a acurácia da técnica de hibridização em membranas para detecção de resistência aos fármacos rifampicina (RMP) e isoniazida (INH) através de detecção de mutações nos genes *katG*, *rpoB* e *inhA* relacionados com a resistência de *Mycobacterium tuberculosis*.



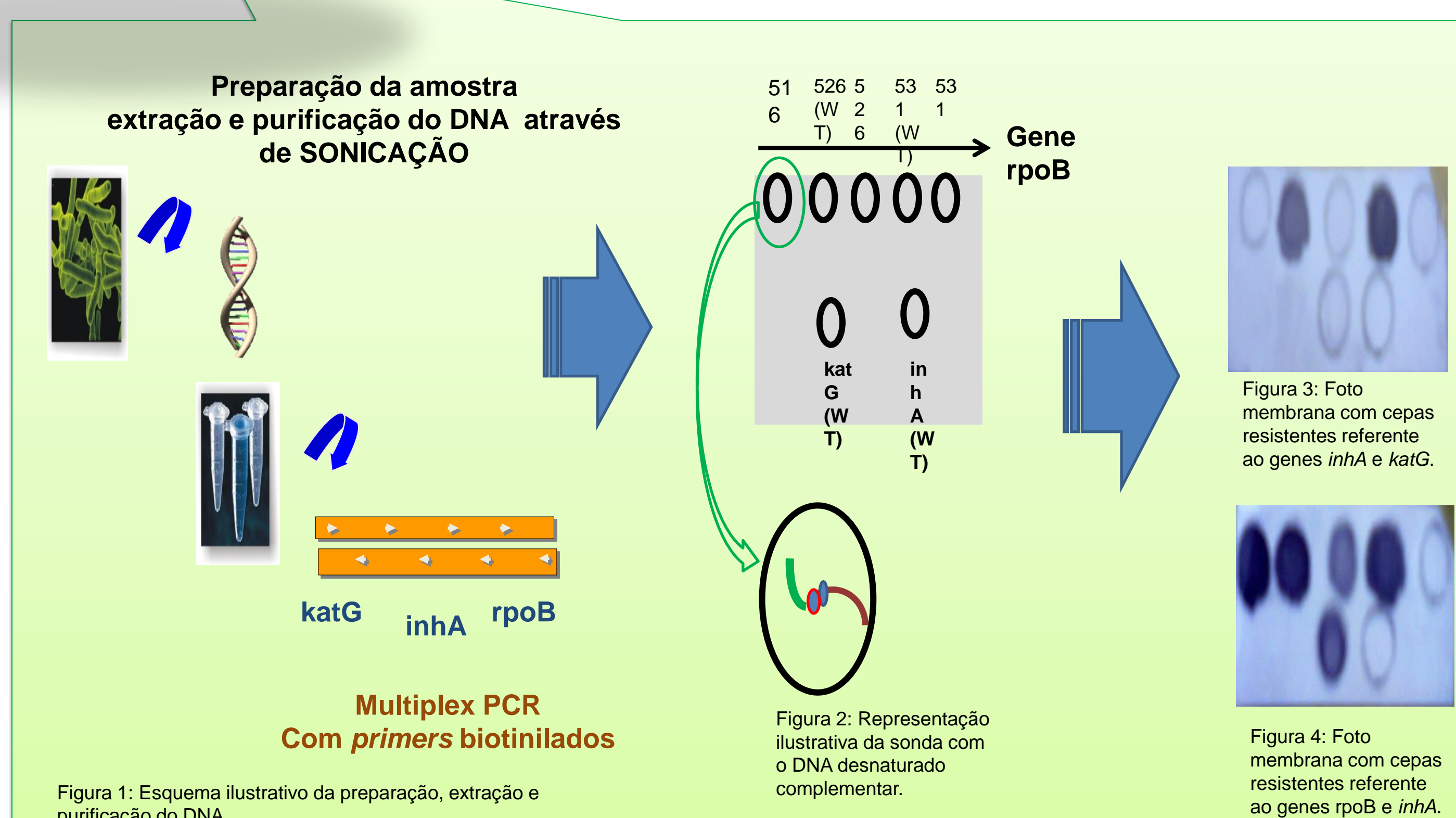
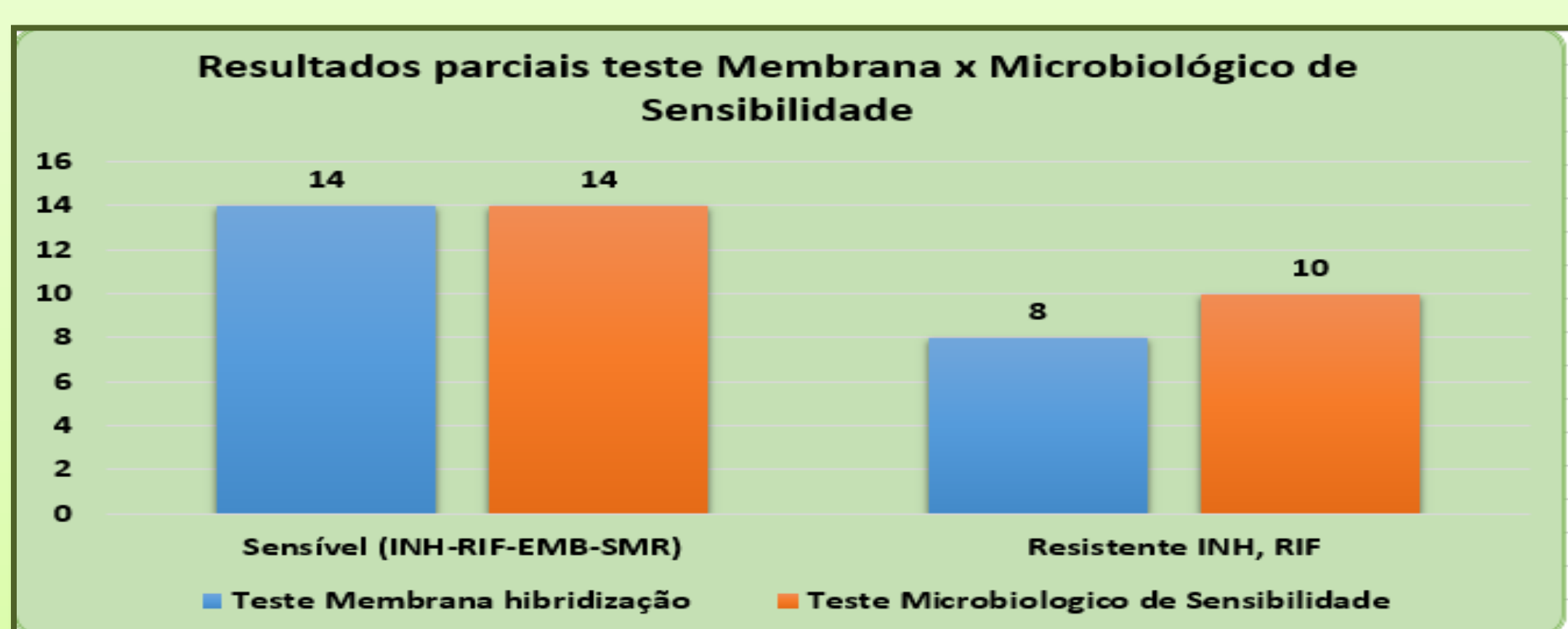
METODOLOGIA

As sondas foram fixadas em membrana de náilon para hibridizar com o produto de um PCR multiplex realizado com *primers* específicos (Figura 1 a 4).

Para a avaliação da acurácia deste novo método de detecção de resistência, será realizada a correlação dos resultados obtidos com o teste microbiológico de sensibilidade.

RESULTADOS PARCIAIS

Até o presente momento, foram analisadas 24 amostras de pacientes diagnosticados com tuberculose e com teste de susceptibilidade microbiológico (Gráfico 1).



CONCLUSÃO

Até o momento, a análise dos DNAs por essa metodologia identificou corretamente o perfil de susceptibilidade das cepas sensíveis aos fármacos de 1ª linha. No entanto, identificou uma divergência de duas amostras entre os testes de sensibilidade e o de membrana. Essa divergência pode estar relacionada a outros mecanismos de resistência não correlacionados aos genes pesquisados. Os resultados ainda preliminares, mas promissores, indicam a possibilidade de utilizar esta metodologia como uma alternativa para a identificação rápida de resistência aos antimicrobianos utilizado no tratamento da TB.

REFERÊNCIAS:

- JÚNIO, R., S. L. M. F. Identificação das mutações mais frequentes relacionadas com a resistência a rifampicina e isoniazida em *Mycobacterium Tuberculosis* nos genes *rpoB*, *katG* e *inhA* através de método molecular com detecção colorimétrica. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do SUL, Porto Alegre, 2012.
- VERZA, M. et al. In house colorimetric reverse hybridisation assay for detection of the mutation most frequently associated with resistance to isoniazid in *Mycobacterium tuberculosis*. MEM INST OSWALDO CRUZ, RIO DE JANEIRO, 104(5) AUGUST 2009.
- MASCHMAN, R. A., et al. Detection of rifampin-resistant genotypes in *Mycobacterium tuberculosis* by reverse hybridization assay. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 106(2): 139-145, March 2011.