



SALÃO DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA JÚNIOR
SALÃO DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA



EXPOULBRA
2015

MOSTRA DAS CIÊNCIAS
E INOVAÇÃO
FÓRUM DE PESQUISA
CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA



AValiação de um método diagnóstico para detecção de *Mycobacterium tuberculosis* APLICADO AO DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PULMONAR

BELLO, Grazielle Lima¹; LINCK, Natali²; ROSSETTI, Maria Lucia Rosa²

1 Biomedicina/ULBRA; **2** PPGBiosaúde/ULBRA.

E-mail para contato: GRAZILBELLO@GMAIL.COM

INTRODUÇÃO

A tuberculose, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada uma das mais preocupantes doenças de notificação compulsória no Brasil. No Estado do Rio Grande do Sul a taxa de coinfeção TB/HIV é o dobro do resto do país e casos de multirresistência às principais drogas do tratamento já são comuns. O diagnóstico de rotina é o microbiológico, sendo constituído de baciloscopia e/ou cultura. Entretanto, a maioria dos locais utiliza apenas a baciloscopia que tem em torno de 50% de sensibilidade, fazendo com que exames complementares e a sintomatologia sejam necessários para o fechamento de cada caso.

OBJETIVO

Avaliar uma metodologia molecular na identificação de DNA de *M. tuberculosis* diretamente de amostras clínicas de escarro coletadas de pacientes atendidos no setor de tisiologia do município de Canoas (RS), sendo os resultados comparados com a cultura (padrão-ouro). O DNA foi amplificado por PCR, após a extração com sílica.

METODOLOGIA

Detecção em microplaca de ELISA: Foi realizada a extração de DNA de amostra clínica de escarro e amplificado o alvo genômico (IS6110) do *M. tuberculosis* através da técnica de PCR. A microplaca foi sensibilizada com uma sonda imobilizada covalentemente à superfície interna do poço (sonda compatível com o alvo), ligada a uma extremidade contendo uma molécula de amina pela qual a referida sonda possui afinidade química. Após a desnaturação do alvo amplificado, que possuía uma molécula sinalizadora (biotina) ligada a sua extremidade, este hibridiza-se com a sonda. Com a adição de uma solução contendo a enzima estreptavidina peroxidase, esta se liga à biotina. Adicionando o substrato (cromógeno) ocorre a reação enzimática e a liberação de cor, que posteriormente foi medida a absorvância por espectrofotômetro.

RESULTADOS

Foram analisadas 204 amostras de escarro quanto à presença/ausência de DNA genômico de *M. tuberculosis* frente à aplicação do método descrito.

Das 36 amostras positivas em cultura de *M. tuberculosis*, 28 foram positivas no teste. Das 168 amostras negativas em cultura, 152 negativaram ao uso do *kit* molecular. Os valores de falso positivos e falso negativos foram, respectivamente, 16 e 8 amostras.

O Índice kappa, que descreve a intensidade da concordância entre dois métodos de classificação (por ex. dois testes de diagnóstico), foi calculado e obtido o valor de 0,63; que segundo a classificação epidemiologia, é considerado um resultado substancial.

CONCLUSÃO

Foi possível concluir que o método de identificação de DNA de *M. tuberculosis* por hibridização reversa mostrou-se aplicável e reprodutível à rotina de um laboratório de análises, bem como, ao desenvolvimento de novas tecnologias aplicáveis à saúde pública.

REFERÊNCIAS

DORMAN, S; HOPKINS, Johns. Advances in the diagnosis of tuberculosis: current status and future prospects. INT J TUBERC LUNG DIS 19(5):504-516 Q, 2015.

BARRETO, Leonardo Bruno Paz Ferreira Barreto et al. Utilização do amplified Mycobacterium tuberculosis directtest em amostras respiratórias de pacientes HIV positivos no Brasil. J Bras Pneumol. 2014;40(2):148-154, 2014.

WHO, disponível em http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/mozambique_tb.pdf, acesso em 08.06.2015

Apoio financeiro: CNPq/ULBRA/FEPPS



EXPANDA SUA MENTE.
MUDE SEU MUNDO.

