

AVALIAÇÃO DE EXTRAÇÃO DE DNA POR CARTÃO FTA PARA DETECÇÃO DE *Mycobacterium tuberculosis*

Soares, T.S.¹ e Bello, G.L.²
Rossetti, M.L.³
ULBRA, Canoas-RS

Introdução

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa de problema de saúde pública mundial, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*. A TB apesar de ser uma doença tratável e prevenível apresenta altos índices de mortalidade. O método de extração de DNA é uma etapa fundamental na execução de métodos de amplificação de DNA. A técnica de extração por sonicação ocorre uma ruptura intensa na parede celular por ondas sonoras de alta frequência. A técnica de extração pelo cartão FTA é uma técnica de simples manuseio, de fácil transporte e armazenamento e ainda faz com que o material se mantenha intacto para análise durante anos.

Objetivo

Avaliar a técnica de extração de DNA *Mycobacterium tuberculosis* diretamente de amostras clínicas de escarro fixadas em papel filtro (FTA® Elute Micro card), pela comparação da mesma com a técnica de extração de DNA por sonicação (método já padronizado) e realizar a etapa de detecção do DNA de *Mycobacterium tuberculosis* por PCR em tempo real.

Metodologia

Foi realizado a extração de 30 amostras (duas alíquotas, uma para cada método). A extração de DNA por sonicação utilizou protocolo adaptado de Schimid, 2014. A extração de DNA por cartão FTA utilizou protocolo de Ali, 2017. O DNA foi amplificado por PCR em tempo real utilizando Step One real Time PCR Systems (AB Applied), os primers utilizados foram do alvo genômico da sequência de inserção 6110 e o fluoróforo para detecção foi SBR Green.

Resultados

A comparação da extração de DNA por sonicação e por Cartão FTA com os resultados do GeneXpert apresentou uma concordância de K=0,85 e K=0,63. Quando a comparação foi realizada com a cultura (n=18), a sensibilidade e a especificidade foram de 100% para a sonicação e 83% e 91%, respectivamente para o Cartão FTA.

Figura 1: Concordância entre os métodos de extração com GeneXpert.

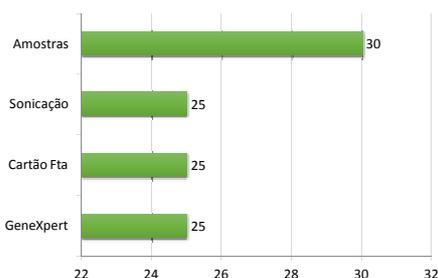
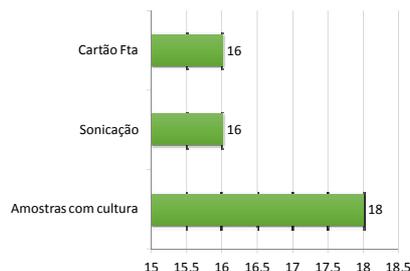


Figura 2: Concordância entre os métodos de extração com a cultura.



Referências

- BRASIL. Ministério da Saúde, 2019. **Manual de recomendações para o controle da Tuberculose no Brasil**. Disponível em: <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/image/s/pdf/2019/marco/28/manual-recomendacoes.pdf>. Acessado em 7 de Agosto de 2019.
- SCHIMID KB. **Comparação de suas metodologias moleculares para diagnóstico de tuberculose [dissertação]**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.
- BELLO, GL. **Análise de métodos para extração de DNA de amostras clínicas e ensaios de genotipagem para *Mycobacterium tuberculosis* resistente à isoniazida**. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular) – ULBRA. Canoas, 2017
- 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 2019.

Conclusão

Neste trabalho foi possível avaliar as técnicas de extração em amostras clínicas, apresentando técnicas rápidas e promissoras, necessitando de alguns ajustes.

¹Aluna de graduação Biomedicina/ULBRA-Bolsista CNPq- talinadossantossoares@gmail.com

²Aluna de Doutorado PPGBiossaúde/ULBRA-Bolsista CNPq

³Professora dos cursos de Graduação Biomedicina/Farmácia e PPGBiossaúde/ULBRA