



Ensaio molecular de hibridização reversa da análise de *M. tuberculosis* em pacientes suspeitos de tuberculose em um município do Rio Grande do Sul

BELLO, Grazielle Lima¹; NICOLA, Maria Rita²; GONÇALVES, Thaizy¹; MARTINS, Cristiana³; LINCK, Natali⁴; SCHERER, Luciene¹; SILVA, Márcia Susana^{1,4,5}; ROSSETTI, Maria Lucia^{1,4,5}

¹ Graduação Biomedicina/ULBRA; ² Graduação Biologia/ULBRA; ³ Graduação Farmácia/ULBRA; ⁴ PGBiossaúde/ULBRA; ⁵ CDCT/FEPPS

INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) pulmonar, causada por *Mycobacterium tuberculosis*, é considerada uma das mais graves doenças infecciosas, sendo uma das primeiras causas de morte entre os pacientes com HIV/AIDS. Estima-se que pelo menos um terço da população mundial esteja infectada e dados recentes têm apontado que a multirresistência aos principais fármacos do tratamento já é considerada comum. O diagnóstico de referência é o microbiológico (baciloscopia e/ou cultura). No entanto, na grande maioria dos locais, apenas a baciloscopia que carece de sensibilidade é utilizada.

OBJETIVO

Avaliar a utilização de uma metodologia molecular (DETECT-TB) 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. Os resultados foram comparados com a cultura.

METODOLOGIA

A técnica foi realizada com todos os reagentes necessários desde a etapa de extração até a detecção do DNA preparados no formato de um protótipo de kit. O DNA foi extraído utilizando resina de sílica. A etapa de hibridização foi feita por reação colorimétrica em placas de ELISA previamente sensibilizadas com sondas específicas do elemento de inserção IS 6110 do genoma. A detecção foi realizada por hibridização reversa com o produto amplificado da PCR. Os resultados foram comparados com a cultura.

RESULTADOS

Foram analisadas 216 amostras. Do total, 39 amostras foram positivas em cultura, e 57 mostraram-se positivas no DETECT-TB. Das 177 negativas, 159 negativaram ao uso do kit. Dessa forma, os resultados de sensibilidade e especificidade foram de, respectivamente, 72 e 84%. Comparando os resultados de baciloscopia com o padrão ouro (culturas), a sensibilidade foi de 53%.

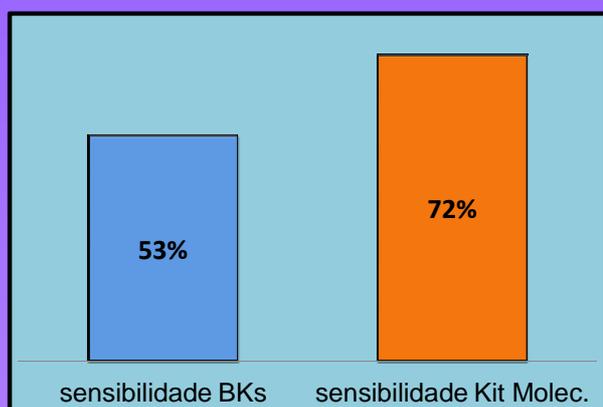


Fig 1- ilustração gráfica da comparação entre as sensibilidades do método de rotina (baciloscopia) e o método molecular empregado nas análises.

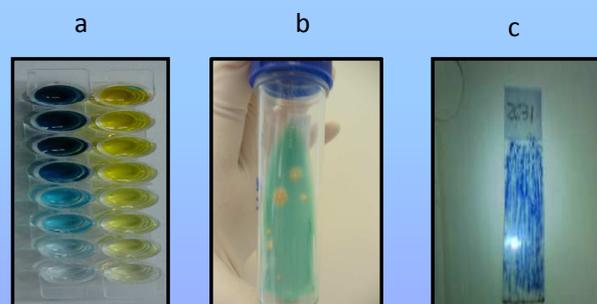


Fig 2 – (a) microplaca após reação colorimétrica ; (b) tubo de cultura positiva para *M. tuberculosis*; (c) lâmina de baciloscopia.

CONCLUSÃO

Analisando os resultados obtidos, foi possível constatar que a utilização desta metodologia na rotina do diagnóstico de TB poderia ser uma alternativa para melhorar a detecção da doença, uma vez que a baciloscopia carece de sensibilidade.

REFERÊNCIAS

>>MICHELON, C. T., ROSSO, F., SCHMID, K. B., SPERHACKE, R. D., OLIVEIRA, M. M., KRITSKI, A. L., REZENDE, R. JR., DALLA COSTA, E. R., RIBEIRO, A. W., VERZA, M., CAFRUNE, P. I., SILVA, M. S. N., KUHLEIS, D., ZAHA, A., ROSSETTI, M. L. R. 2011. Colorimetric microwell plate reverse-hybridization assay for *Mycobacterium tuberculosis* detection. Mem Inst Oswaldo Cruz, 106:194-199.

>>VAN DOORN, H. R., BRUIJNESTEIJN VAN COPPENRAET, E. S., DUIM, B., VANDENBROUCKE-GRAULS, C. M., WEEL, J. F., DANKERT, J., KUIJPER, E. J., DE JONG, M. D. 2006. Silica-guanidinium thiocyanate-based nucleic acid isolation protocol does not improve sensitivity of two commercial tests for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples. Eur J Clin Microbiol Infect Dis., 25:673-675.

>>WHO. Global tuberculosis control: epidemiology, strategy, financing: WHO report 2012. WHO/HTM/TB/2012.