

¹ Bolsista Probioc/Fapergs, Centro de Pesquisa em Saúde Animal - IPVDF, Eldorado do Sul, DDPA – SEAPI, Graduada em Medicina Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). E-mail: giovana.brum@ufrgs.br

² Pesquisadora, Centro de Pesquisa em Saúde Animal – IPVDF, Eldorado do Sul, DDPA – SEAPI (Orient.).

INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina (bTB) causada por *Mycobacterium bovis* é uma doença crônica e debilitante de bovinos e bubalinos que gera lesões granulomatosas (Fig.1), e se associa a prejuízos econômicos no setor pecuário. Sua ocorrência é mundial, e pode ser transmitida ao ser humano e a diferentes espécies de animais.

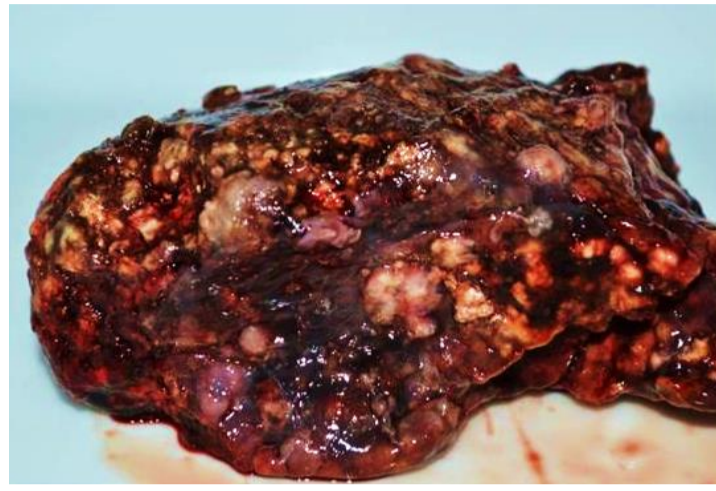


Fig. 1 - Pulmão com lesões tuberculosas.

JUSTIFICATIVA

O diagnóstico definitivo de bTB é dado *post-mortem* por isolamento bacteriano. O cultivo de micobactérias exige nível 3 de biossegurança, além de ser demorado. Desta forma, técnicas moleculares baseadas em reação em cadeia da polimerase (PCR) podem contribuir para avanços no diagnóstico *post-mortem* de bTB.

OBJETIVO

Avaliar a eficiência da PCR em tempo real para bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* como diagnóstico *post-mortem* de bTB.

METODOLOGIA

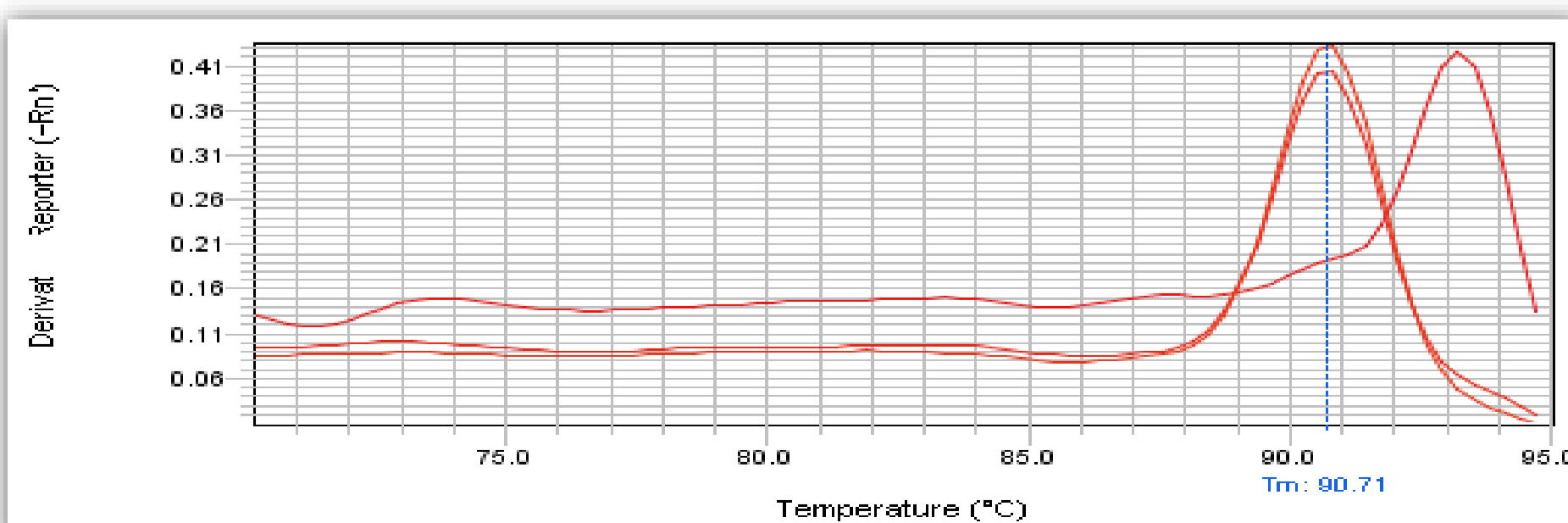
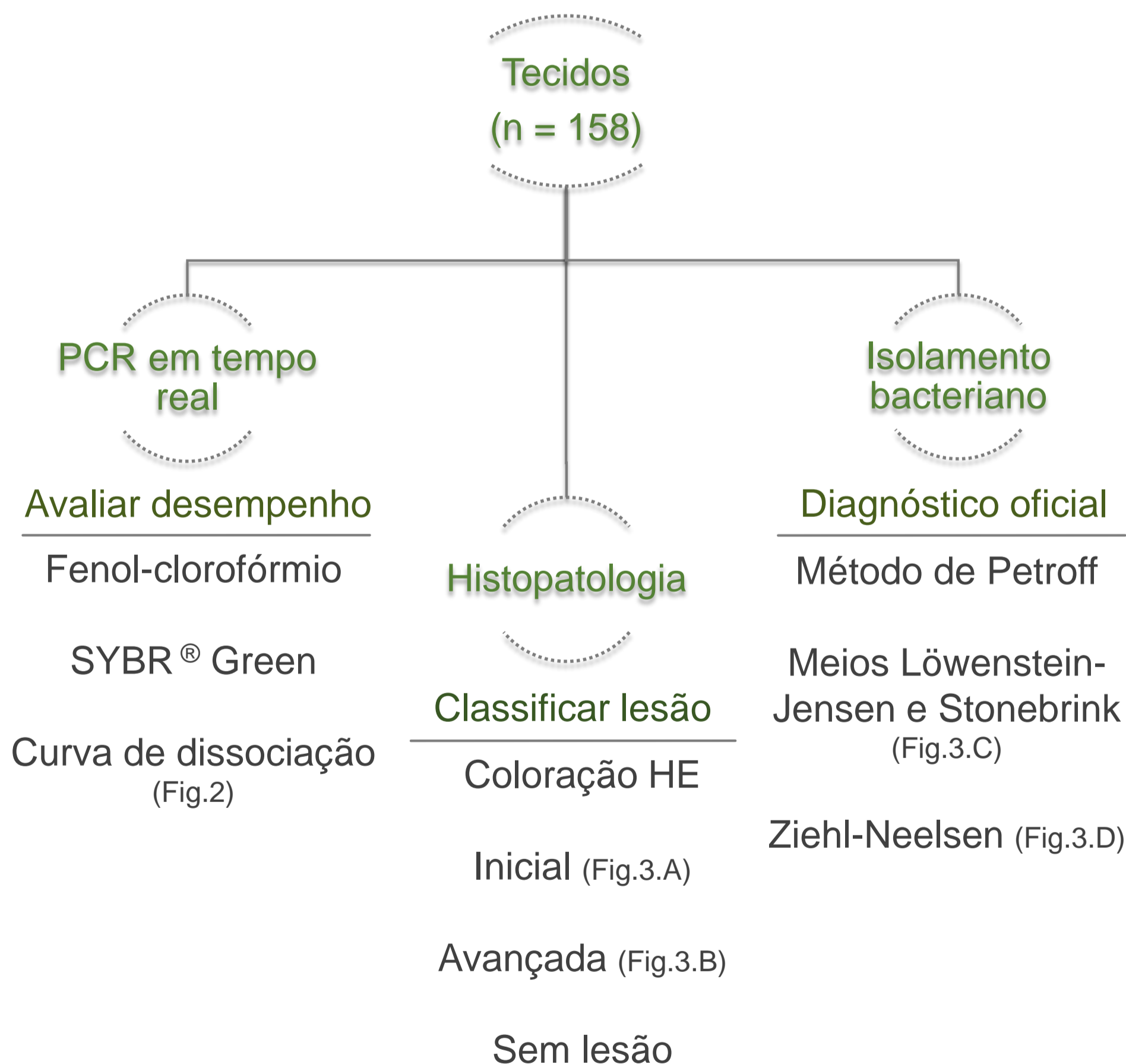


Fig. 2 – A temperatura de dissociação (TM) de micobactérias dos complexos *M. tuberculosis* e *M. avium* é de aproximadamente 90 °C e 93 °C, respectivamente.

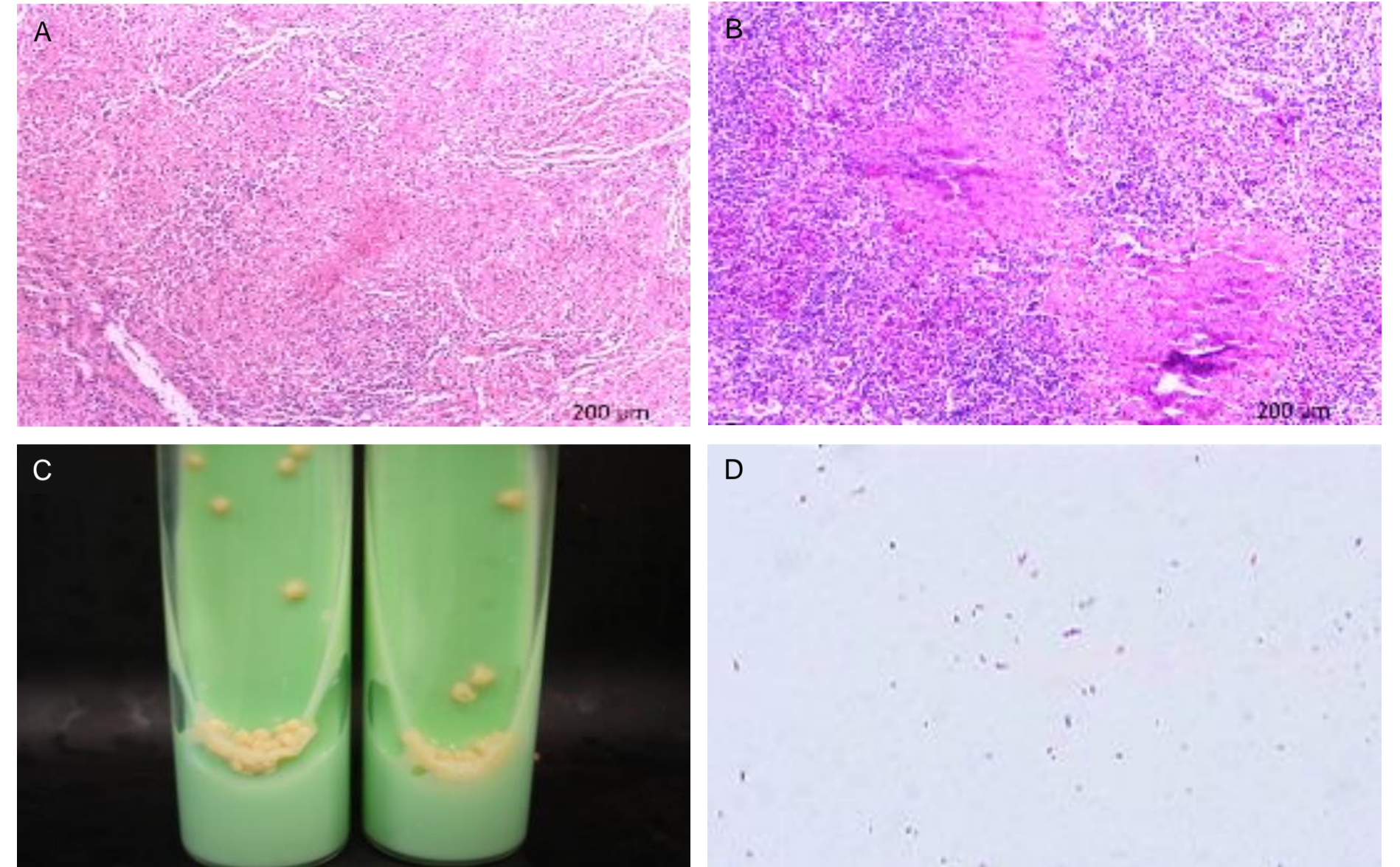


Fig. 3. A. Fotomicrografia de linfonodo demonstrando lesão inicial com necrose caseosa discreta cercada de MΦ epitelióides. B. Lesão avançada multicêntrica com marcada necrose caseosa, MΦ epitelióides, acúmulo linfocítico e áreas de mineralização distrófica. C. Cultivo de micobactérias em Meio Löwenstein-Jensen. D. Bacilos álcool-ácido resistentes corados por Ziehl-Neelsen.

RESULTADOS

A PCR em tempo real demonstrou baixa sensibilidade, alta especificidade e baixa concordância frente ao Isolamento.

Tabela 1. Resultados da PCR confrontados com os do Isolamento bacteriano.

	Geral	Lesão inicial (n=6)	Lesão avançada (n=56)
Sensibilidade	33,85	9,52	36,21
Especificidade	88,35	94,12	89,80
VPP	64,71	28,57	67,74
VPN	67,91	80,81	70,40
Kappa	0,24	0,05	0,28
Concordância	67,26	77,36	69,87

VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

DISCUSSÃO

- ❑ A baixa sensibilidade pode estar relacionada a fatores como baixa carga de bacilos, método de extração de DNA e à influência do DNA do hospedeiro na sensibilidade analítica.
- ❑ Maior sensibilidade em lesões avançadas reforça a hipótese de que poucos bacilos sejam a causa da baixa sensibilidade, embora o número de amostras de lesões iniciais seja baixo.
- ❑ Resultados positivos na PCR em tempo real poderiam ser considerados conclusivos para o diagnóstico de bTB e os negativos devem ser submetidos ao isolamento bacteriano.
- ❑ Amostras positivas na PCR em tempo real e negativas no isolamento deve ocorrer devido à presença de bactérias inviáveis na lesão, mas cujo DNA pode ser detectado.

CONCLUSÃO

- ✓ A PCR em tempo real não foi capaz de substituir o isolamento bacteriano.
- ✓ Novos estudos devem considerar diferentes métodos para a extração do DNA, bem como o uso de um fragmento maior de amostra.