

SALÃO DE  
INICIAÇÃO CIENTÍFICA  
**XXIX SIC**  
  
**UFRGS**  
PROPESQ



múltipla   
**UNIVERSIDADE**  
inovadora  inspiradora

<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2017: SIC - XXIX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2017
<b>Local</b>	Campus do Vale
<b>Título</b>	AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO DA PCR EM TEMPO REAL NO DIAGNÓSTICO POST-MORTEM DE TUBERCULOSE BOVINA
<b>Autor</b>	GIOVANA BRUM TEIXEIRA
<b>Orientador</b>	FABIANA QUOOS MAYER

# **AValiação DO DESEMPENHO DA PCR EM TEMPO REAL NO DIAGNÓSTICO POST-MORTEM DE TUBERCULOSE BOVINA**

**Giovana Brum Teixeira**

**Orientadora: Fabiana Quoos Mayer**

**SECRETARIA DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E IRRIGAÇÃO (SEAPI)  
DEPARTAMENTO DE DIAGNÓSTICO E PESQUISA AGROPECUÁRIA (DDPA)**

A tuberculose bovina (bTB) é uma doença infecto-contagiosa crônica e debilitante de bovinos/bubalinos, causada principalmente por *Mycobacterium bovis*, bactéria pertencente ao complexo *Mycobacterium tuberculosis*. A doença apresenta caráter zoonótico e capacidade infectante de diversas espécies de animais domésticos e silvestres. O Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT) define as normativas de diagnóstico e controle da bTB e prevê para teste *in vivo* a tuberculinização, e no *post-mortem* o isolamento bacteriológico a partir das lesões presuntivas. Entretanto, o isolamento bacteriano é um método laborioso, demorado, devido ao crescimento lento das micobactérias patogênicas, e exige instalações de nível 3 de biossegurança. Desta forma, o presente estudo propôs o uso de PCR em tempo real, técnica molecular baseada em detecção do DNA de micobactérias do complexo *M. tuberculosis*, para o diagnóstico *post-mortem* de bTB. Foram avaliadas 158 amostras de tecidos bovinos recebidas no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) ou coletadas de abates sanitários de animais positivos para bTB no período de 2011 a 2015. A extração de DNA foi realizada por método de fenol-clorofórmio. Para a PCR em tempo real foi utilizado SYBR® Green e um par de *primers* capazes de diferenciar os complexos de *Mycobacterium avium e Mycobacterium tuberculosis* pela curva de dissociação. Os resultados foram confrontados com o isolamento bacteriológico. Para avaliar a influência do estágio da lesão na capacidade de detecção da PCR em tempo real, as amostras foram subsequentemente divididas de acordo com o estágio da lesão detectado por histopatologia em sem lesão (n = 91), lesões iniciais (n = 6) e avançadas (n = 56) e foram novamente confrontadas com o resultado do isolamento bacteriano. Os resultados obtidos mostram baixa sensibilidade (33,9%), alta especificidade (87,1%) e baixo valor kappa de concordância (0,226) da PCR em tempo real quando comparada ao isolamento bacteriano. A análise em diferentes estágios das lesões mostrou que a técnica molecular é mais sensível em lesões avançadas do que em lesões iniciais (36,2% e 9,5%, respectivamente), embora o número de amostras em estágio inicial seja baixo. Os resultados indicam que as amostras positivas na PCR em tempo real poderiam ser consideradas conclusivas para o diagnóstico de bTB, devido à especificidade; no entanto, a técnica não se mostrou capaz de substituir o método padrão. A ocorrência de 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. Com relação à baixa sensibilidade, fatores como baixa carga bacteriana, influência do DNA do hospedeiro na sensibilidade analítica da técnica, e o método de extração de DNA devem ser estudados em maior profundidade para entender o desfecho observado.