

A Organização Mundial de Saúde estima que ocorram nove milhões de novos casos de tuberculose (TB) anualmente no mundo, sendo que cerca de dois milhões destes resultam em mortes. Devido às limitações inerentes aos métodos tradicionais de diagnóstico da doença, novas técnicas baseadas em biologia molecular têm sido uma alternativa para o auxílio no diagnóstico da TB. Este trabalho tem como objetivo padronizar um protocolo para detecção colorimétrica em microplacas para identificação de DNA que codifica a região espaçadora intergênica (ITS) 16S-23S rRNA do complexo *M. tuberculosis* (*M. tb*). Esta região é bastante estudada por ser muito conservada e estar presente como cópia única no genoma do complexo *M. tb*. Onze amostras de DNA foram analisadas de um total de 40. Estas são, provenientes de um banco de DNAs de cultura de *M. tb* do CDCT. Os DNAs foram amplificados através da PCR utilizando *primers* biotinizados Sp1 e Sp2 descrito por Xiong *et al*, 2006, originando um fragmento de 220 pb. Os produtos foram hibridizados em microplacas contendo uma sonda aminada, específica do complexo *M. tb*, complementar a região interna do 16S-23S rDNA. Para detecção dos produtos foi utilizado um conjugado estreptavidina-peroxidase e substrato TMB, que desenvolvem uma coloração azul quando a reação é positiva. A intensidade da cor foi medida em espectrofotômetro (450nm). Foram considerados positivos os valores de absorvância acima de 0,119, média obtida dos controles negativos. Das 11 amostras analisadas, 8 (73%) foram positivas, concordando com a cultura e 3 (27%) foram negativas, discordando da cultura. Portanto, novos testes serão realizados para o aumento da sensibilidade da técnica, modificando parâmetros como: tempo e temperatura de hibridização, concentração de material amplificado, concentração da sonda. Para análise estatística será utilizado o teste Qui-quadrado.