

Detecção de DNA de *Mycobacterium tuberculosis* de amostras pulmonares de pacientes atendidos em uma Unidade Básica de Saúde no Município de Canoas

MARTINS, Cristiana Alves¹; ROSSETTI, Maria Lucia^{1,2}.
¹Graduação Farmácia/ULBRA; ² PPGTA/ULBRA

INTRODUÇÃO

A cada segundo, diariamente, um indivíduo é infectado por *M. tuberculosis* que causa a tuberculose (TB). Embora o Brasil nos últimos anos, tenha reduzido os números de casos de TB, ainda ocupa o 19º lugar entre os 22 países que concentram 80% dos casos em todo o mundo. O diagnóstico de rotina de TB ainda é realizado através da baciloscopia, que é pouco sensível e da cultura (para alguns casos) que é muito demorada. Portanto, o desenvolvimento de novas técnicas de diagnóstico, que permitam a detecção da doença mais precocemente e o início de um tratamento adequado podem, além de curar o paciente, auxiliar no controle da doença por evitar a transmissão do bacilo.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi detectar DNA de *M. tuberculosis* por PCR convencional a partir de amostras pulmonares e avaliar a acurácia (especificidade e sensibilidade) do método em comparação com a baciloscopia.

METODOLOGIA

Foram coletadas amostras de escarro de pacientes com suspeita de TB, atendidos na Unidade de Tisiologia do Município de Canoas.



Extração de DNA e PCR

O método de extração e purificação de DNA foi realizado utilizando resina de sílica conforme descrito por Rossetti *et al* (1997) com modificações.

O DNA extraído foi amplificado através da técnica de PCR utilizando os *primers* específicos de uma região do elemento de inserção IS6110. O fragmento de 245 pb foi visualizado em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio.

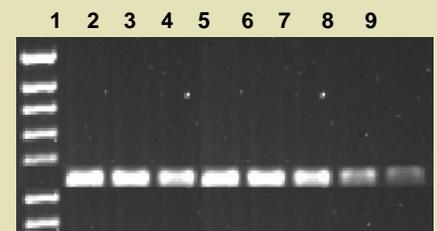


Figura 2: Visualização gel agarose 1,5% corado com brometo de etídio. Caneleta 1 marcador de peso molecular ladder. Caneleta 2 a 9, correspondem as amostras positivas de tuberculose pulmonar com produto amplificado de 245 pb.

RESULTADOS

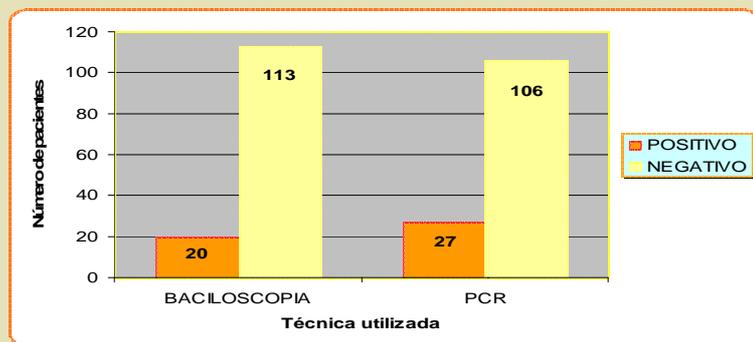


Figura 1: Gráfico demonstrativo dos resultados obtidos.

Foram analisadas 133 amostras de escarro. As 20 amostras que eram positivas na baciloscopia foram também positivas no PCR, além de mais 7 amostras das negativas. Todas as amostras negativas por baciloscopia, também foram negativas no PCR. A sensibilidade e a especificidade foram de 100% e 93%, respectivamente.

As amostras discrepantes podem ser falso positivas, mas também podem ser devido a baixa sensibilidade da baciloscopia. Esse trabalho deveria ter utilizado a cultura como padrão ouro. Isso não foi possível por essa técnica não estar implementada na rotina do Serviço de Saúde.

CONCLUSÃO

A análise destes resultados sugere que esta metodologia poderia ser uma alternativa para auxiliar no diagnóstico de TB juntamente com a baciloscopia. No entanto, uma nova análise deveria ser realizada utilizando a cultura como padrão de referência.

REFÊNCIAS:

ROSSETTI, M. I.; Silva, C. M. D.; Rodrigues, J. J. S. Doenças Infecciosas: Diagnóstico Molecular. Rio de Janeiro: Guanabara koogan. v.1 2006.

ASSIS, Nelma Cristina Sousa; *et al*. Diagnóstico molecular da tuberculose pulmonar. J Bras Patol Med Lab. v. 43, n.1, p.1-7. Fevereiro 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Tuberculose: Brasil reduz casos em 3,54% em 2011. Disponível em:

<http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/4567/162/tuberculose:-brasil-reduz-numero-de-casos-em-354-no-ultimo-ano.html> .

Acessado em: 05 de junho 2012.