MEDTROP
54º CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL
02 a 05 Setembro 2018 Centro de Convenções de Pernambuco | Olinda PE

E-mail: danyelecmello@gmail.com
WhatsApp: (81) 99513-8380

AVALIAÇÃO DA PCR EM TEMPO REAL COM INSUMOS NACIONAIS ATRAVÉS DO LIMITE DE DETECÇÃO DE DNA DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS PARA O DIAGNÓSTICO DA TUBERCULOSE PULMONAR E EXTRAPULMONAR

Danyele Costa de Mello [1], Marcela Pereira Salazar [1], Aline dos Santos Peixoto [1], Kessia Kelly Batista da Silva [1], Alexandre Dias Tavares Costa [2], Nair Ali [2], Fabricio K Marchini [2], Haiana Charifker Schindler [1]

[1] IAM - Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz Pernambuco),

[2] IBMP - Instituto de Biologia Molecular do Paraná (Fiocruz Paraná)

INTRODUÇÃO

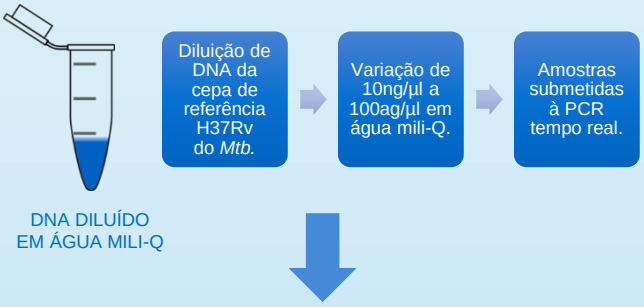
A Tuberculose (TB) é uma doença infectocontagiosa causada pelo *Mycobacterium tuberculosis (MTB)*, que afeta principalmente os pulmões, porém, pode acometer qualquer órgão. Os métodos de diagnóstico da TB consistem de dados da história clínica, anamnese e dos achados radiológicos do paciente, além da identificação do agente infeccioso através da cultura, considerada padrão ouro, e baciloscopia. Entretanto, a demora no crescimento das colônias de *MTB* e/ou o não crescimento, quando se trata de amostras paucibacilares, faz com que seu uso torne-se limitado. Assim, as técnicas moleculares que vêm sendo utilizadas reduzem o tempo de detecção e identificação da doença, o que é fundamental para início do tratamento e, consequentemente, sucesso no controle da doença.

OBJETIVO

Avaliar o limite de detecção da PCR em tempo real com insumos nacionais com DNA do *Mtb* para o diagnóstico da TB pulmonar e extrapulmonar.

METODOLOGIA

Análise do limite de detecção de DNA do *MTB* a partir da cepa de referência H37Rv.

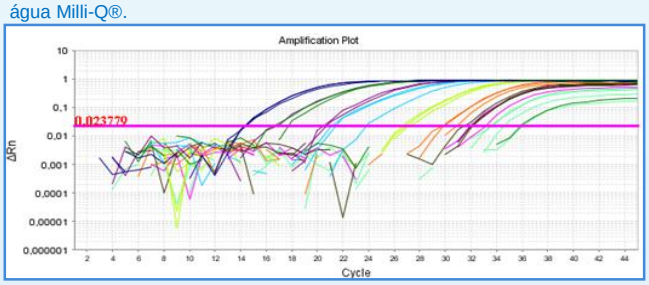


As amostras foram submetidas à PCR em tempo real, com as seguintes condições: 50º - 2min; 95º 10min; 95º 15seg e 60º 1min durante 45 ciclos.

RESULTADOS

O limite de detecção da PCR em tempo real foi determinado pela menor concentração de DNA do *M. tuberculosis* da cepa de referência H37Rv. O resultado obtido mostrou um limite de detecção de 1fg/µL.

Figura 1: Gráfico de amplificação da curva de DNA de *MTB* diluído em água Milli-Q®.



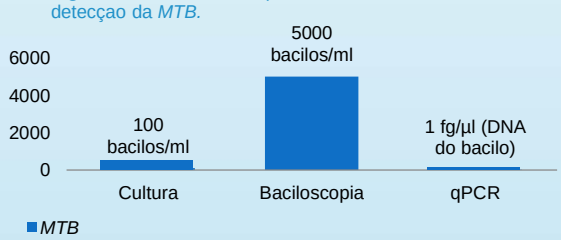
Pelo autor 2018.

Legenda: 1pq, NTC, 1ng, 10pg, 10fg, 100pg, 1fq, 10ng, 100fq

CONCLUSÃO

A PCR em tempo real mostrou uma ótima sensibilidade, muito superior à encontrada nos métodos convencionais de rotina (baciloscopia e cultura), e pode ser utilizada como ferramenta auxiliar no diagnóstico da TB, principalmente nos casos mais difíceis de serem elucidados, como os casos paucibacilares e/ou extrapulmonares. A partir dos resultados obtidos, a PCR será testada em amostras biológicas de pacientes com TB.

Figura 2: Gráfico comparativo de efetividade da detecçao da *MTB.*



REFERÊNCIAS

DUCATI, R. G. et al. *The resumption of consumption: a review on tuberculosis*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., Rio de Janeiro, v. 101, n. 7, p. 697-714, nov. 2006.

HUF, G.; KRITSKI, A. *Avaliação da utilidade clínica de novos testes diagnósticos em tuberculose: o papel dos ensaios clínicos pragmáticos.* J. Bras. Pneumol., Brasília, v. 38, n. 2, p. 237-245, fev. 2012.

LIRA, L.A.S.; **SANTOS, F.C.F.**; CARVALHO, M.S.Z.; **MONTENEGRO, R.A.LIMA, J.F.C.**; **SCHINDLER, H.C.**; **MONTENEGRO, L.M.L.** Evaluation of a IS6110-Taqman real-time PCR assay to detect *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples of patients with pulmonary TB. Journal of Applied Microbiology (Print), v. 1, p. , 2013.

NOVAIS, C. M.; ALVES, M. P.; SILVA, F. F. PCR em tempo real, n. 33, p. 10-13. Recife: Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento, 2004.

Apoio:
FACEPE
CNPq
LETB