



# Avaliação do ensaio de PCR em tempo real para detecção do *Mycobacterium tuberculosis* resistente à Isoniazida

Bandeira, Jessica<sup>1</sup>; Rolim, Fernanda<sup>2</sup>; Bello, Grazielle Lima<sup>3</sup>; Moraes, Franciele<sup>3</sup>; Rossetti, Maria Lucia<sup>3</sup>.

1.Biomedicina/Ulbra 2.Farmácia/Ulbra 3.PPGBiosaúde/Ulbra

E-mail para contato: jessibandeira@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) resistente a medicamentos tem aumentado mundialmente, exigindo o desenvolvimento de novos testes de detecção de resistência. Os principais fármacos utilizados no tratamento de primeira linha da TB são a isoniazida (INH) e a rifampicina (RIF), e a resistência a ambas as drogas configura-se em casos de tuberculose multidroga resistente (TB-MDR). Até recentemente, a RIF era considerada um marcador de MDR-TB, visto que, frequentemente essa resistência está associada à resistência à INH. Há estudos recorrentes que mostram o agente *Mycobacterium tuberculosis* resistente à INH e sensível à RIF; significando um fator de risco para pobres desfechos. A monoresistência à INH apresentou uma média global, em 2014, de 9,5% de novos casos e 14% de TB previamente tratada. Globalmente, estima-se que mais de 1 milhão de pessoas desenvolvem TB resistente à INH a cada ano.

## OBJETIVO

Desenvolver, padronizar e avaliar dois ensaios de genotipagem por PCR em tempo real (ensaios Taqman®) para detecção de marcadores de resistência à INH com DNA extraído de cultura *M. tuberculosis*.

## MÉTODOS

Foram selecionadas 55 amostras de DNA que foram extraídas de cultura de *M. tuberculosis*, conforme descrito por van Soolingen et al., (1994). Essas amostras passaram por testes bacteriológicos e bioquímicos realizados para a diferenciação de espécies dentro do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) e Micobactérias que não a tuberculose (MOTT). Após essas amostras foram submetidos ao teste de suscetibilidade a drogas (DST), utilizando o método MGIT, segundo o fabricante.

Para o PCR em tempo real foi utilizado o sistema de detecção Taqman. Para a reação foi utilizado solução de primers e sondas (AB Applied Biosystems) em uma concentração de 20X e 10 ng / mL de DNA foi adicionado na mistura.

## RESULTADOS

Table 1: Performance of *katG* gene genotyping by real-time PCR.

	Sequencing (MUT)	Sequencing (WT)	Total	Sensibility (%)	Specificity (%)	Kappa
Real-Time PCR <i>katG</i> (MUT)	42	1	43			
Real-Time PCR <i>katG</i> (WT)	1	11	12	97	91	0.89
Total	43	12	55			

(MUT) = Mutated; (WT) = Wild Type

Table 2: Performance of *inhA* gene genotyping by real-time PCR.

	Sequencing (MUT)	Sequencing (WT)	Total	Sensibility (%)	Specificity (%)	Kappa
Real-Time PCR <i>inhA</i> (MUT)	17	1	18			
Real-Time PCR <i>inhA</i> (WT)	1	36	37	94	97	0.91
Total	18	37	55			

(MUT) = Mutated; (WT) = Wild Type

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos pelo nosso método proposto indicam que testes moleculares podem ser usados para a detecção rápida de TB resistente a medicamentos com alta precisão. Portanto, é essencial realizar estudos avaliando métodos para a identificação de *M. tuberculosis* resistentes à INH utilizando a base molecular conhecida. Isso pode auxiliar na detecção rápida e no diagnóstico precoce da TB resistente primária, que é a principal forma de contenção da doença.