



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Avaliação de um método molecular para diagnóstico alternativo de tuberculose bovina in vivo
Autor	ANDRÉ VINÍCIUS ANDRADE BEZERRA
Orientador	FABIANA QUOOS MAYER
Instituição	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuaria

A tuberculose bovina é uma zoonose re-emergente, que representa riscos econômicos e de saúde pública em diversos países. O diagnóstico da doença no animal vivo é realizado através do teste intradérmico da tuberculina, que se baseia em reações de hipersensibilidade tardia. Por ser uma doença com resposta imunológica complexa, este teste possui limitações de sensibilidade e especificidade. O presente estudo buscou desenvolver uma abordagem alternativa para o diagnóstico *in vivo* da tuberculose bovina, baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR). Foram utilizadas amostras de DNA extraídas de suabes nasais de vacas vivas, provenientes de propriedades de assentamento em Eldorado do Sul. Paralelamente com a coleta das amostras, o teste da tuberculina foi realizado. As amostras de muco nasal foram coletadas com suabes estéreis e submetidas à extração de DNA pelo método de fenol-clorofórmio. Após a extração, as amostras foram quantificadas em Nanodrop 1000. A presença de inibidores no DNA foi verificada através da realização de PCR convencional para o gene da Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), conservado entre os mamíferos. Para a detecção dos complexos *Mycobacterium tuberculosis* e *Mycobacterium avium* realizou-se PCR em tempo real com SYBR[®] Green (Life Technologies) capaz de diferenciar os complexos em uma reação única. A análise estatística foi realizada com programa WinEpiscope versão 2.0 para comparar os resultados obtidos do teste da tuberculina com a PCR em tempo real, determinando assim a sensibilidade e especificidade do método molecular e coeficiente de concordância e correlação entre os métodos. Foram avaliados 238 animais, dos quais 192 foram incluídos no estudo por apresentarem amostras positivas para o gene *GAPDH*. Dos 192 animais, 25 tiveram resultado positivo no teste da tuberculina, sendo encaminhados para abate. A técnica de PCR em tempo real para detectar bactérias dos complexos *M. tuberculosis* e *M. avium* em amostras de suabes nasais mostrou sensibilidade de 0 % e 4 %, respectivamente, em relação ao teste da tuberculina. A especificidade do método foi de 98,2 % para ambos os complexos. Baixos valores do coeficiente de concordância (Kappa) e correlação (Pearson) foram observados. Uma possível explicação para a baixa eficácia do método é que a carga bacteriana expelida pelos mucos nasais pode ser muito baixa, ainda assim mantendo o potencial de transmissão da doença. Neill e colaboradores sugeriram, através de um modelo matemático, que apenas 1 bacilo viável é capaz de transmitir a infecção. A sensibilidade analítica da PCR em tempo real utilizada neste estudo foi de 100 moléculas de DNA bacteriano, sendo 1000 moléculas detectadas em escala linear (Mayer et al., 2012), desta forma, um aprimoramento da técnica molecular pode ser realizado a fim de aumentar sua sensibilidade analítica. Além disso, outra possível explicação é que dentre os 25 animais abatidos, apenas 12 apresentavam lesões macroscópicas características de tuberculose e dentre estas, apenas 6 eram pulmonares. Estudos anteriores indicam maior eficiência da análise molecular em suabes nasais de bovinos, porém o número de amostras analisadas era baixo, não havendo comparação com o teste da tuberculina em busca de validação. Desta forma, este estudo mostrou que a técnica molecular para diagnóstico *in vivo* de tuberculose bovina a partir de suabes nasais, nas condições testadas, não foi eficiente, sendo o teste da tuberculina ainda a melhor opção para o diagnóstico da doença.