



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Desenvolvimento de métodos moleculares aplicados ao diagnóstico post-mortem de tuberculose bovina
Autor	EMILY MARQUES DOS REIS
Orientador	FABIANA QUOOS MAYER
Instituição	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuaria

A tuberculose é uma doença infecto-contagiosa, re-emergente de abrangência mundial, causada por bactérias pertencentes ao gênero *Mycobacterium*. A doença, por ser uma zoonose, representa risco para a saúde humana e é responsável por perdas econômicas para o setor pecuário. Os métodos empregados no diagnóstico da tuberculose exercem um papel fundamental no controle desta enfermidade, sendo o isolamento bacteriano considerado o diagnóstico definitivo em exames *post-mortem*. Entretanto, esta abordagem possui limitações como baixa sensibilidade, dificuldade de realização, variabilidade nos processos de identificação e crescimento lento do agente. Uma estratégia alternativa para superar estas limitações é a utilização de métodos moleculares, nos quais a análise de fragmentos de DNA permite a detecção e identificação do agente causador da doença. O objetivo do presente estudo foi avaliar a técnica de PCR para diagnóstico *post-mortem* da tuberculose bovina. Para isso, foram analisadas amostras de tecido de bovinos recebidas no Laboratório de Histopatologia do IPVDF, ou coletadas em abatedouros nos casos de abates sanitários, realizados a fim de eliminar animais positivos para o teste da tuberculina, exame realizado paradiagnóstico *in vivo* da doença. As amostras foram submetidas ao isolamento bacteriano, coloração por Ziehl Neelsen, análise histopatológica e análise molecular. A análise estatística foi realizada com programa WinEpiscope versão 2.0 para comparar os resultados obtidos nos testes, a fim de determinar a sensibilidade e especificidade dos métodos moleculares e coeficiente de concordância (Kappa) entre os diferentes métodos. Ainda, os dados das análises e os resultados da tuberculina foram comparados através de análise de associação utilizando teste de qui-quadrado. A extração de DNA a partir dos tecidos foi realizada por protocolo de fenol-clorofórmio. A presença de inibidores no DNA foi verificada através de PCR convencional para o gene da Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (*GAPDH*), conservado entre os mamíferos. Para a detecção de *Mycobacterium bovis*, uma PCR convencional foi projetada para amplificar regiões adjacentes a 12,7 kb, porção deletada apenas no genoma desta bactéria. Até o presente, foram analisadas 141 amostras, das quais todas foram positivas para o gene *GAPDH*. Os resultados preliminares mostram que, quando comparados ao isolamento bacteriano, a sensibilidade da PCR convencional para *M. bovis* foi de 77,78 % e especificidade de 82,85 % (kappa = 0,5169). Quando comparado à análise histopatológica, a PCR convencional teve uma sensibilidade de 84,21 % e especificidade de 98,61 % (kappa = 0,8616). A análise de associação entre os resultados da tuberculina com isolamento, histopatologia ou teste molecular mostra que houve associação apenas entre a histopatologia e tuberculina ($p < 0,001$) e análise molecular e tuberculina ($p = 0,039$). Estes dados mostram que os testes diagnósticos para tuberculose bovina são variáveis em relação à eficiência e que a análise molecular tem potencial de ser aplicada no diagnóstico da tuberculose bovina. No entanto, é necessário que um maior número de amostras seja analisado para se confirmar esta proposição.