

Identificação de *Mycobacterium bovis* por espectrometria de massas MALDI-TOF

Primeiro autor: Larissa Costa Olarte

Demais autores: Olarte, L. C.^{1}; Duarte, L. F. C.²; Leguizamón, G. O. C.³; Araújo, F. R.³; Verbisck, N. V.³*

Resumo

A tuberculose bovina é uma doença zoonótica, causada pela bactéria *Mycobacterium bovis*. Diversas espécies de mamíferos, inclusive o homem, podem infectar-se por esse bacilo. Além do risco à saúde pública, ocorrem perdas econômicas devido à menor produtividade nos rebanhos acometidos. Objetivou-se definir e implementar metodologia de espectrometria de massas MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time-of-Flight) para classificar gênero e espécies de *Mycobacterium*, por meio da construção de uma biblioteca de biomarcadores específicos desses microrganismos após cultivo microbiológico. Para definir o protocolo de extração molecular, foi feito um levantamento de artigos no PubMed, com as palavras-chave “Mycobacteria” e “MALDI”. Foram revistos 365 artigos desde o ano 2010 e destes foram selecionados 58 relatos que realizaram análises a partir de cultivo em meio sólido para micobactérias. Foram identificadas 26 metodologias distintas, a partir das quais se desenharam quatro protocolos consenso diferentes para serem testados. Diante dos resultados obtidos nas quatro condições avaliadas, determinou-se o seguinte protocolo: inativação celular por calor (95 °C por 45 minutos), rompimento celular com es-

(1) Graduanda da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS, olartelarissa@gmail.com (2) Doutoranda em Ciências Veterinárias - UFMS (3) Embrapa Gado de Corte.

* Autor correspondente.

feras de zircônio/sílica e MagNA Lyser (Roche) e extração de proteínas com ácido fórmico 70% e acetonitrila. As amostras foram analisadas por MALDI-TOF e os espectros de massas obtidos foram comparados contra um banco de referência para 4137 isolados diferentes, incluindo 173 micobactérias, empregando-se o programa computacional Biotyper (Bruker Daltonics). Foram analisados oito isolados de cinco bovinos positivos para tuberculose, dos quais sete isolados foram identificados quanto ao gênero e espécie. Quatro isolados foram identificados como *Mycobacterium bovis*, dois como *Mycobacterium tuberculosis* e um como *Mycobacterium smegmatis*. Dos cinco animais positivos para tuberculose quatro tiveram a identificação da espécie de micobactéria confirmada por MALDI após cultivo, ou seja, 80%. Assim, pode-se concluir que esta metodologia possibilita a identificação de espécies de *Mycobacterium* e constitui um relevante incremento na investigação para diagnóstico de tuberculose bovina.

Parceria / Apoio financeiro

UFMS e Embrapa.