

NOME DO PRIMEIRO AUTOR

LÍVIA DOS SANTOS RUSSI



5^a Jornada Científica da Embrapa Gado de Corte
21 a 23 de outubro de 2009
Campo Grande - MS

TÍTULO

AVALIAÇÃO DE MÉTODOS PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE CULTURAS DE MICOBACTÉRIAS

AUTORES

RUSSI, L. S. (1) *; ARAÚJO, F. R. (2); RAMOS, C. A. N. (3); SOUZA, I. I. F. (1); LUIZ, H. L. (4); FARIAS, T. A. (1); BACANELLI, G. (4); ROSINHA, G. M. S. (2); SOARES, C. O. (2); ELISEI, C. (1); OSÓRIO, A. L. A. R. (5); JORGE, K. S. G. (5); SANTOS, L. R. (1)

CHAMADA DE RODAPÉ

(1) Bolsista DTI/CNPq na Embrapa Gado de Corte, livia_russi@hotmail.com. (2) Pesquisador da Embrapa Gado de Corte. (3) Doutorando da Universidade Federal Rural de Pernambuco. (4) Mestranda da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. (5) Pesquisadora da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

RESUMO

Muitas bactérias do gênero *Mycobacterium* são patogênicas e acarretam consideráveis problemas econômicos e de saúde pública, tornando necessário o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais eficientes. O crescimento lento das micobactérias aliado à sua espessa camada de peptidoglicano torna a extração de DNA um processo laborioso e de difícil padronização, o que pode inviabilizar sua utilização em técnicas de diagnóstico molecular. O objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes métodos para extração de DNA utilizando culturas de micobactérias. Foram testados quatro protocolos: Boom et al. (J Clin Microbiol, v.28, 495, 1990), Käser et al. (Appl Environ Microbiol, v.75, 414, 2009), *kit Easy DNA* (Invitrogen) e *kit RTP* (Invitex). Inicialmente, todos os protocolos foram testados em culturas de *M. fortuitum* e após serem avaliados, o primeiro e o terceiro foram selecionados e aplicados em culturas de *M. kansasii*, *M. gordonae*, *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. avium* e *M. avium avium*. As amostras obtidas foram avaliadas por eletroforese em gel de agarose 0,8% e espectrofotometria. O protocolo que revelou DNA com melhor integridade e qualidade foi o descrito por Boom et al. (1990), adaptado neste estudo. Os resultados encontrados para concentração (ng/μL) e relação $A_{260/280}$ para este protocolo foram, respectivamente: *M. kansasii* (72,3; 1,50), *M. gordonae* (133,2; 1,48), *M. tuberculosis* (153,6; 1,69), *M. bovis* (51,9; 1,50), *M. avium* (162,1; 1,49) e *M. avium avium* (43,5; 1,76). As amostras foram testadas na reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo-real, que permitiu a identificação molecular dos complexos *M. avium*, *M. tuberculosis* e micobactérias-não-tuberculosas. Estes resultados demonstram que a extração de DNA, a partir de culturas de micobactérias, por meio da adaptação do protocolo de Boom et al. (1990), foi eficiente e permitiu a obtenção de amostras de boa qualidade que poderão ser utilizadas para a identificação destes patógenos por PCR em tempo-real.

PARCERIA/APOIO FINANCEIRO

Embrapa Gado de Corte, CNPq, UFRPE e UFMS

* autor correspondente.