XXV Congresso de Iniciação Científica da Unicamp

18 a 20 Outubro Campinas | Brasil

25
ANOS

2017

Avaliação de diferentes condições metodológicas para aumentar a sensibilidade no diagnóstico molecular de *Bartonella* spp..

Beatriz Andrade*, Ana Paula R. Santos, Amanda R. Almeida, Paulo E. N. F. Velho.

Resumo

As bartoneloses são doenças causadas pelas *Bartonella* spp., bactérias emergentes e negligenciadas, potencialmente fatais. Sua bacteremia é baixa, dificultando seu diagnóstico e exigindo a realização de diferentes técnicas para diminuir resultados falso-negativos. Ainda não existe um método padrão-ouro para o diagnóstico. Sendo assim, este trabalho tem o objetivo de comparar entre métodos de extração de DNA, aquele com maior eficácia na quantidade e qualidade do DNA extraído, visando a redução de resultados falso-negativos e a viabilidade da metodologia na rotina diagnóstica.

Palavras-chave: *Bartonella*, sensibilidade, diagnóstico

Introdução

As bartoneloses causam uma grande variedade de manifestações clínicas, dentre elas fadiga, eritema nodoso, febre de origem indeterminada e recorrente, indisposição, insônia, depressão, adenopatia, linfadenopatia, esplenomegalia, angiomatose bacilar, hepatite, manifestações dermatológicas como exantemas, púrpuras, eritema nodoso e polimorfo, granuloma anular, eritema multiforme, púrpura trombocitopênica, entre diversas outras manifestações. Apesar dos sintomas serem muito variados, a infecção pode ser assintomática ou subclínica. Essa diversidade nas manifestações causadas pelas *Bartonella* spp. está ligada a vários fatores, como a resposta imunológica do paciente, a variedade de espécies e cepas e sua virulência. Algumas dessas manifestações podem vir a ser fatais, especialmente em indivíduos imunodeprimidos (KAISER et al., 2011). As *Bartonella* spp. apresentam uma distribuição universal e negligenciada, sua detecção é extremamente difícil e seu crescimento fastidioso faz com que inúmeros pacientes fiquem sem o diagnóstico (VELHO et al., 2003). Atualmente a detecção é realizada com o uso concomitante de diferentes métodos moleculares, porém, tais procedimentos demandam muito tempo e altos custos, impossibilitando a aplicabilidade da detecção na rotina clínica. Sendo assim, este trabalho tem o objetivo de investigar dentre dois métodos de extração de DNA aquele que possibilite maior quantidade e qualidade de DNA extraído contribuído para um aumento na sensibilidade dos testes moleculares e consequentemente diminuir os resultados falso-negativos, tornando o diagnóstico mais sensível.

Resultados Parciais e Discussão

Figura 1. Fluxo experimental.

Tabela 1. Quantificação do DNA.

Método	Média da Concentração $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	Média Razão 260/280nm
Comercial	0,03	1,74
Orgânica	0,12	1,50
teste t	$p < 0,01$	$p < 0,001$

Entre os protocolos avaliados, a extração orgânica proporciona uma maior quantidade de DNA, quando comparada com a extração comercial. Contudo a avaliação da razão 260/280nm, não foi diferente entre os métodos.

Conclusões

Até o presente momento a extração orgânica é mais eficiente quanto a quantidade de DNA extraído. Porém a razão 260/280nm não é satisfatória, mostrando contaminações com proteínas, gorduras e resquícios dos reagentes utilizados no processo de extração.

Kaiser PO, Riess T, O'Rourke F, Linke D, Kempf VA. Bartonella spp.: throwing light on uncommon human infections. International journal of medical microbiology : IJMM. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2011 Jan;301(1):7-15.

Velho PE, Cintra ML, Uthida-Tanaka AM, de Moraes AM, Mariotto A. What do we (not) know about the human bartonelloses? Braz J Infect Dis 2003; 7:1-6. 1986, 108, 3335.