

**Núcleo de Avaliação:** Núcleo I

**Área temática:** Bioquímica

**Área do Conhecimento:** Biologia Molecular

### **Padronização extração DNA de micobactérias fixadas em lâminas coradas de baciloscopia – Aplicação para o diagnóstico e estudos epidemiológicos da hanseníase e da tuberculose**

Moisés Vasco de Freitas, Luiz Pedro Boschetti, Sidnei Miyoshi Sakamoto, Caio Augusto Martins Aires

**Introdução:** A hanseníase é uma doença infecciosa crônica causada pelo *Mycobacterium leprae*, uma micobactéria, que afeta pele, nervos, olhos e vias respiratórias. Transmitida por gotículas respiratórias, pode causar danos permanentes aos nervos, levando a deformidades e perda de sensibilidade. O tratamento por poliquimioterapia (PQT) é eficaz na cura, se iniciado precocemente. A doença é mais prevalente em países pobres, com mais de 200 mil novos casos em 2019. No Brasil, especialmente no Nordeste, a erradicação enfrenta barreiras como desconhecimento e dificuldades diagnósticas. Devido à impossibilidade de cultivo em laboratório, métodos moleculares, como a extração de DNA, são cruciais para estudos de epidemiologia molecular, diagnóstico e controle da hanseníase. **Objetivo:** Padronizar a extração de DNA de micobactérias fixadas em lâminas coradas de baciloscopia. **Metodologia:** Utilizaram-se cepas de vacina BCG (*Mycobacterium bovis*), devido à sua facilidade de aquisição e biossegurança, para simular lâminas histológicas coradas. As amostras, fornecidas pela Secretaria Municipal de Saúde de Mossoró, foram diluídas, coradas pelo método de Ziehl-Neelsen e analisadas ao microscópio. Posteriormente, as lâminas foram raspadas para extração do material genético. Foram preparadas 10 amostras: cinco por raspagem de lâminas e cinco a partir de vacinas diretamente adicionadas a microtubos. A extração do DNA seguiu etapas de lise celular com guanidina-HCl, precipitação com isopropanol, centrifugação e lavagem com etanol. A amplificação foi realizada com os primers Ag36K F/R para *M. leprae* e IS6110F/R para *M. tuberculosis* complex, com confirmação por eletroforese. **Resultados e Discussão:** O método de extração de DNA com guanidina foi eficaz para *M. bovis* em amostras de vacinas adicionadas diretamente aos microtubos, com identificação de material genético em quatro de cinco amostras após eletroforese. A temperatura de amplificação ideal foi estabelecida em 66°C. No entanto, nenhuma das cinco amostras obtidas por raspagem de lâminas apresentou DNA detectável, indicando baixa concentração de material genético e possíveis falhas na raspagem. A dificuldade de visualização e ausência de quantificação pré-PCR são fatores que podem ter influenciado nos resultados. Por outro lado, quatro de cinco amostras diluídas da vacina foram positivas, reforçando a viabilidade do método em condições controladas. **Conclusão:** O método de extração de DNA com guanidina mostrou-se promissor, com detecção de material genético em quatro de cinco amostras de vacinas após eletroforese. A temperatura ideal para amplificação de *M. bovis* foi definida em 66°C. Contudo, a ausência

---

de resultados positivos nas amostras raspadas de lâminas evidencia a necessidade de ajustes na técnica de transferência e quantificação do material genético, especialmente para otimizar sua aplicação em amostras fixadas em lâminas histológicas.

**Palavras-chave:** Hanseníase; saúde pública; epidemiologia.

**Agência financiadora:** PIVIC-Af (ações afirmativas).

**Campus:** Mossoró

---