







Aplicação de ensaio qPCR para detecção de Mycoplasma genitalium e Mycoplasma hominis em pacientes atendidas na Fundação Hospitalar Alfredo da Matta, em Manaus-AM

Emanuelle Cristina de Andrade Valente, Cynthia de Oliveira Ferreira

INTRODUÇÃO

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) são causadas por diversos patógenos, incluindo bactérias. Entre as principais espécies encontram-se Mycoplasma genitalium, agente responsável por quadros de uretrite em homens e cervicite em mulheres e Mycoplasma hominis causador de uretrite não gonocócica.

Figura 1 – Mycoplasma genitalium

Em relação ao diagnóstico laboratorial desses microrganismos, o cultivo é realizado através de meios de cultura, porém a técnica é laboriosa e demorada. Dessa forma, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é a técnica mais sensível e rápida. Com isso, o objetivo desse projeto é padronizar um ensaio de qPCR para detecção de M. gentalium e M. hominis em pacientes atendidas na

METODOLOGIA

Fundação Hospitalar.





RESULTADOS

4-Amplificação

Figura 2 – Concentrações de DNA das amostras em ng/μl 15 Concentração(ng/uL) 2 Mg 3 Mg 4 Mg 7 Mh 9 Mh 10 Mh 1 Mg 5 Mg 6 Mg Número da amostra

O gráfico da figura 2 indica que as amostras com maior concentração de DNA foram a 7 Mh, com 14,4 ng/µL, seguida por 2 Mg com 9,8 ng/µL. Enquanto a maioria das amostras possuem concentrações relativamente baixas, variando entre 2,3 ng/μL e 9,8 ng/μL, o que indica uma variação moderada entre as amostras. Amostra 4 Mg obteve a menor concentração, com 2,3 ng/ μ L.

	Volume total de 20 uL	Volume total de 10 uL	Volume total de 5 uL
Água ultrapura	q.s.p	q.s.p	q.s.p
Master Mix	10 μL	5 μL	2,5 μL
Sonda	1 μL	0,5 μL	0,25 μL

Tabela 1 – Concentração de reagentes em diferentes volumes totais

As amostras de M. genitalium exibiram menores números de ciclos (CT), indicando uma amplificação mais eficiente à medida que a concentração de reagentes foi reduzida. Em contraste, as amostras de M. hominis apresentaram o comportamento oposto, não amplificando conforme a quantidade de reagentes diminuía.

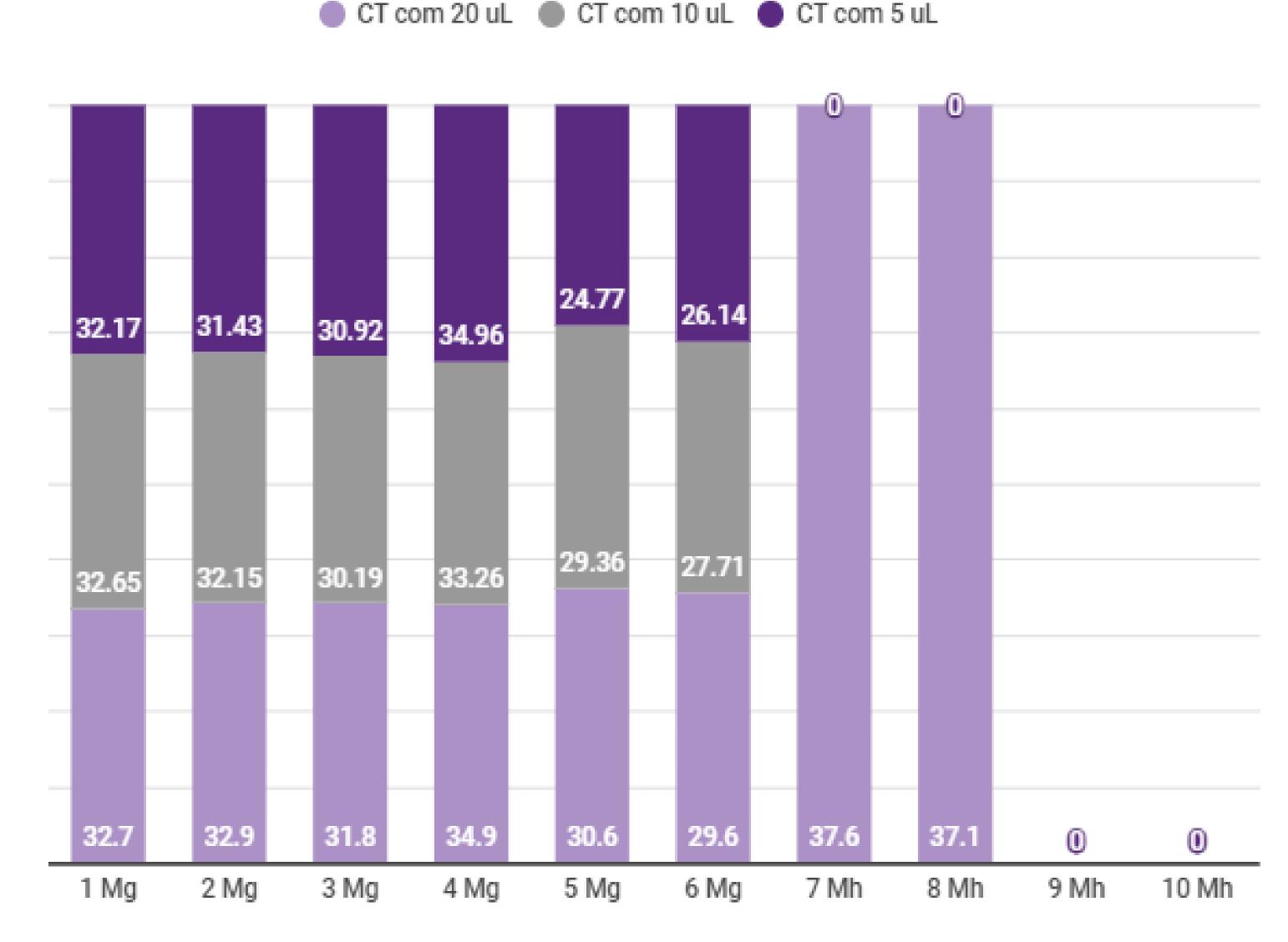


Figura 3 – Quantidades de ciclos para detecção de DNA de M. genitalium e M. hominis

COMENTÁRIOS FINAIS

Este estudo evidencia que através de uma padronização adequada do ensaio molecular será possível otimizar custos e, consequentemente, melhorar o atendimento às pacientes do SUS, proporcionando um diagnóstico molecular mais acessível e eficiente.

Com isso, as próximas etapas serão a utilização das sondas testadas em amostras da rotina do Laboratório de Biologia Molecular da Fundação Alfredo da Matta, para diagnóstico em amostras de corrimento uretral/cervical.

REFERÊNCIAS

CARRILLO-ÁVILA, José et al. Development and Evaluation of a New qPCR Assay for the Detection of Mycoplasma in Cell Cultures. qPCR Assay, 2023.

OH, Eun Ju et al. Mycoplasma genitalium and Mycoplasma hominis infection in south Korea during 2018-2020. Mycoplasma, 2021.