



DIAGNÓSTICO E DETECÇÃO DE PATÓGENOS MEDIANTE A iiPCR IMPLEMENTADO NO FLUORÍMETRO PORTÁTIL POCKIT: O CASO DE *LACTOCOCCUS* SPP.

Laran Cristine **Panerari-Marcatto**¹, Matheus **Ranieri**², Ricardo **Harakava**³, Pedro Luis **Ramos-González**⁴

Nº 24817

RESUMO - Métodos moleculares são comumente utilizados para o diagnóstico de doenças e a detecção de patógenos. Variantes dessas metodologias conhecidas como diagnósticos “Point of Care” (ponto de decisão) ganham popularidade devido à sua rapidez e facilidade de uso. Nesse estudo avaliamos a eficácia do fluorímetro portátil POCKIT num ensaio do tipo Point of Care e o comparamos ao método qPCR (técnica de referência) para detectar a bactéria *Lactococcus* sp. Além de fluorímetro, o POCKIT realiza o PCR isotermal isolado (iiPCR) num R-tubo, no qual mediante um ciclo de convecção acontecem as mesmas etapas de uma PCR convencional. Os ensaios preliminares no qPCR e no POCKIT permitiram identificar os valores ótimos de concentração de primers e sondas assim como os limites de detecção de cada método. Os resultados mostraram que embora o DNA da bactéria foi detectado mediante iiPCR, a sensibilidade do diagnóstico no POCKIT foi entre 100 e 1000x menor a da qPCR. O teste permitiu a identificação de *Lactococcus* sp. em tecidos de peixes infectados no qual o ADN foi extraído no sistema automático usando esferas magnéticas. Ajustes serão necessárias para aprimorar a capacidade diagnóstica de uma metodologia potencialmente útil em pontos de decisão.

Palavras-chaves: qPCR, Point of Care

1 Bolsista CNPq (PIBIC): Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo-SP, larancristine@gmail.com

2 Colaborador: Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo-SP

3 Colaborador: Pesquisador Científico, Instituto Biológico, São Paulo, SP, ricardo.harakava@sp.gov.br

4 Orientador: Bolsista de Pós-Doutorado, Instituto Biológico, São Paulo, SP, plrg1970@gmail.com



ABSTRACT - Molecular methods are commonly used for disease diagnosis and pathogen detection. Variants of these methodologies known as “Point of Care” diagnostics are gaining popularity due to their speed and ease of use. In this study, we evaluated the effectiveness of the POCKIT portable fluorimeter in a Point of Care assay and compared it to the qPCR method (reference technique) for detecting the bacterium *Lactococcus* sp. In addition to being a fluorimeter, the POCKIT performs isolated isothermal PCR (iiPCR) in an R-tube, in which the same steps as a conventional PCR are carried out using a convection cycle. Preliminary tests on qPCR and POCKIT enabled the optimal concentration values for primers and probes to be identified, as well as the detection limits for each method. The results showed that although the bacteria's DNA was detected using iiPCR, the diagnostic sensitivity of POCKIT was between 100 and 1000x lower than that of qPCR. The test allowed the identification of *Lactococcus* sp. in infected fish tissues in which the DNA was extracted in an automatic system using magnetic beads. Adjustments will be necessary to improve the diagnostic capacity of a potentially useful methodology at decision points.

Keywords: qPCR, Point of Care