

COMPARAÇÃO DE DIAGNOSTICO POR PCR UTILIZANDO A MÁQUINA POCKIT CENTRAL E PCR CONVENCIONAL PARA ISKNV

XVII Encontro Brasileiro de Patologistas de Organismos Aquáticos, 1^a edição, de 04/10/2023 a 06/10/2023
ISBN dos Anais: 978-65-5465-040-3

PAZ; Deborah Jacob Freire da ¹, BORDINASSI; Ericson Augusto ², FERREIRA; Daniel de Abreu Reis ³, PEREIRA; Vinicius Galante ⁴, PILARSKI; Fabiana ⁵

RESUMO

O diagnóstico de patologias emergentes na aquicultura é sempre desafiador, pois muitas vezes o conhecimento sobre determinada doença pode ser limitado ou não há disponibilidade de mão de obra especializada ou infraestrutura adequada para realizar o protocolo corretamente. Este fato é ainda mais relevante quando se trata da identificação de vírus. O ISKNV é um vírus que chegou recentemente na produção de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) no Brasil e vem causando uma elevada taxa de morbidade e mortalidade em pisciculturas de vários Estados brasileiros. O diagnóstico é realizado por PCR ou isolamento viral, sendo a histologia e sinais clínicos complementares a investigação. Equipamentos portáteis, que fazem a PCR, como a Pockit Central são inovações no mercado, e seu objetivo é diminuir o tempo e o custo do diagnóstico para a pesquisa acadêmica e para o produtor. Neste trabalho, comparamos o diagnóstico realizado pela PCR convencional, com extração do DNA através de kit "DNeasy Blood and Tissue" (Qiagen) com o equipamento Pockit Central para exemplares de tilápia positiva para ISKNV e piranha (*Serrasalmus maculatus*) negativa. A PCR convencional foi realizada utilizando-se o kit "Platinum II Taq HotStart DNA polymerase" (Invitrogen), e os primers utilizados foram os recomendados pela Organização Mundial para Saúde Animal (OIE). Para realização do diagnóstico pela Pockit Central, foi seguido o protocolo estabelecido pelo fornecedor, utilizando 40 mg de órgãos(baço, fígado ou rim) macerados em solução de PBS. Para amplificação foi utilizado o kit Irido-M premix reagent lot: IridoMA0303607 (Pockit Central). As amostras extraídas pelo método convencional foram submetidas ao Nanodrop para dosagem da concentração de DNA ((ng x ul1)/(A260/A280)/(A260/A230)) para tilápia 76 (381.6/2.09/ 2.30), 89 (239/2.07/2.28), as piranhas 135 (113.3/1.96/1.95), 144 (369/2.02/2.26), 145 (279/1.98/2.10) e 146 (114.5/2.01/1.36). Como resultado, ambas as metodologias identificaram as amostras positivas para o vírus em tilápias e negativas para as piranhas. Desta forma, o diagnóstico realizado pela PCR convencional e pelo Pockit Central identificaram corretamente a presença ou não do ISKNV, indicando que ambos podem ser utilizados para o monitoramento de ISKNV. Todavia, mais estudos devem ser realizados para a determinação da sensibilidade e especificidade dos diferentes kits dispostos pelos fabricantes uma vez que a especificidade está diretamente ligada as sequências das sondas que não estão disponíveis para consulta. Desta forma, podemos concluir que esta inovação oferece rapidez, diminuição de custo e baixa necessidade de conhecimento técnico por parte do operador, o que pode auxiliar as pisciculturas no monitoramento da saúde dos peixes, principalmente ao ISKNV.

PALAVRAS-CHAVE: PCR, vírus, peixe e monitoramento

¹ Centro de Aquicultura da UNESP – (CAUNESP), debjacob@hotmail.com

² Centro de Aquicultura da UNESP – (CAUNESP), ericson.bordinassi@unesp.br

³ Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária Unesp – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária FCAV, daniel.reis@unesp.br

⁴ Centro de Aquicultura da UNESP – (CAUNESP), vinicius.galante@unesp.br

⁵ Centro de Aquicultura da UNESP – (CAUNESP) e Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária Unesp – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária FCAV, fabiana.pilarSKI@unesp.br