



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

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

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

### 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

<sup>1</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), debyjacob@hotmail.com

<sup>2</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), ericson.bordinassi@unesp.br

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

<sup>4</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), vinicius.galante@unesp.br

<sup>5</sup> 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

ISKNV.

**PALAVRAS-CHAVE:** PCR, vírus, peixe e monitoramento

<sup>1</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), [debyjacob@hotmail.com](mailto:debyjacob@hotmail.com)

<sup>2</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), [ericson.bordinassi@unesp.br](mailto:ericson.bordinassi@unesp.br)

<sup>3</sup> Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agropecuária Unesp - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária FCAV, [daniel.reis@unesp.br](mailto:daniel.reis@unesp.br)

<sup>4</sup> Centro de Aquicultura da UNESP - (CAUNESP), [vinicius.galante@unesp.br](mailto:vinicius.galante@unesp.br)

<sup>5</sup> 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](mailto:fabiana.pilarski@unesp.br)