



XXXV SALÃO de INICIAÇÃO CIENTÍFICA

6 a 10 de novembro

Evento	Salão UFRGS 2023: SIC - XXXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2023
Local	Campus Centro - UFRGS
Título	Produção de insumos simplificados e desenvolvimento de um ensaio RT-LAMP para o diagnóstico da COVID-19
Autor	RAFAELA DESSUY HAMMARSTROM
Orientador	KARINA MARIANTE MONTEIRO

Produção de insumos simplificados e desenvolvimento de um ensaio RT-LAMP para o diagnóstico da COVID-19

Rafaela Dessuy Hammarstrom, Karina Mariante Monteiro

Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Os testes de amplificação de ácidos nucleicos são o padrão-ouro para o diagnóstico da COVID-19. Dentre estes, o LAMP (loop-mediated isothermal amplification) se destaca por ser uma alternativa simples, rápida e de baixo custo. Porém, o Brasil ainda depende de reagentes e kits importados para aplicação dessa técnica. Assim, o objetivo deste trabalho foi a produção *in house* de insumos simplificados e o desenvolvimento de um ensaio RT-LAMP para o diagnóstico da COVID-19. Foram preparados tampões de reação e insumos baseados em extratos de células de *Escherichia coli* expressando as enzimas MMLV-RT e Bst recombinantes. O ensaio de RT-LAMP foi baseado na metodologia QUASR (quenching of unincorporated amplification signal reporters) utilizando primers para detecção do gene E de SARS-CoV-2. O experimento foi visualizado sob luz UV ou LED azul. A metodologia foi padronizada utilizando RNA do gene E produzido por transcrição *in vitro*. Componentes das reações de RT e LAMP foram liofilizados na presença de trealose para avaliação da sua estabilidade em temperatura ambiente. O ensaio de RT-LAMP padronizado foi avaliado comparativamente com um ensaio comercial utilizando amostras de pacientes com COVID-19. Após o estabelecimento das condições ótimas do ensaio, o RT-LAMP desenvolvido com os insumos produzidos *in house* foi capaz de detectar 0,012 ng do RNA do gene E de SARS-CoV-2, demonstrando uma alta sensibilidade. As reações liofilizadas na presença de trealose se mantiveram estáveis a temperatura ambiente por até 48 h. Nos testes com as amostras clínicas, o RT-LAMP padronizado detectou 49/54 das amostras positivas para COVID-19 (90,7% de sensibilidade), resultado superior ao apresentado pelo kit comercial (44/54; 81,5% sensibilidade). Posteriormente, serão avaliadas amostras de pacientes negativos para COVID-19 para avaliação da especificidade do ensaio desenvolvido.

Financiamento: PPSUS, FAPERGS, SES-RS, Decit/SCTIE/MS, CNPq, BIC-UFRGS

