

## Detecção do Vírus Dengue por RT-LAMP em Dispositivos Descartáveis de Poliéster-Toner (PeT).

Geovana de M. Mendes<sup>1</sup> (IC), Kezia G. de Oliveira<sup>1</sup> (PG), Alexandre M. Bailão<sup>2</sup>(PQ), Fabíola S. Fiaccadori<sup>3</sup> (PQ), Gabriela R. M. Duarte<sup>1\*</sup> (PQ)

[gabriela\\_duarte@ufg.br](mailto:gabriela_duarte@ufg.br)

(1) Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.

(2) Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.

(3) Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia-GO.

Palavras Chave: Microchip, poliéster-toner, RT-LAMP, dengue.

### Abstract

Detection of Dengue Virus by RT-LAMP in Polyester-toner Based Microchip.

The present study describes the development of a simple, rapid, and cost-effective one step RT-LAMP assay for detection of dengue virus in PeT microchips.

### Introdução

As técnicas de biologia molecular são conhecidas pela alta sensibilidade e seletividade, permitindo um diagnóstico preciso e precoce de muitas doenças. Entretanto, essas técnicas enfrentam alguns problemas quando realizadas em escalas convencionais, pois requerem múltiplas etapas analíticas e consomem muito tempo, além de utilizarem múltiplos instrumentos e manipulações de soluções entre as etapas. No sentido de contornar os problemas encontrados em escala convencional, a microfluídica tem demonstrado muitas aplicações, gerando plataformas de baixo custo para implementação de diversas técnicas de diagnósticos, incluindo os diagnósticos moleculares para detecção e identificação de patógenos. O foco principal deste trabalho é simplificar o diagnóstico molecular do vírus dengue (DENV), reduzindo o número de etapas e equipamentos necessários. Para isso, a detecção do RNA do vírus foi realizada através da transcrição reversa seguida da LAMP, que realiza a amplificação de DNA sem a necessidade de termocicladores, já que a amplificação é feita isotermicamente. A LAMP utiliza a enzima *Bst DNA Polimerase* que é uma enzima com atividade de deslocamento de fita. A LAMP possibilita amplificar sequências de DNA com grande especificidade. A tecnologia LAMP utiliza um conjunto de quatro iniciadores específicos, desenhados a partir da sequência que se deseja amplificar. Estes iniciadores são denominados genericamente de FIP (*forward inner primer*), F3, B3 e BIP (*backward inner primer*) e são desenhados a partir de seis segmentos específicos da sequência a ser amplificada.

### Resultados e Discussão

Para realização da RT-LAMP, utilizou-se seis iniciadores desenhados para a detecção do sorotipo 1 do vírus da dengue: F3, B3, FIP, BIP, FLP e BLP. A mistura reacional para RT-LAMP, preparada utilizando RNA do sorotipo 1 do vírus da dengue, foi transferida para a microcâmara reacional do dispositivo de PeT, com capacidade para 5  $\mu$ L, e incubada a 60 °C por 60 minutos em um termobloco. Controles negativos foram realizados em todas as reações. Os microchips de PeT demonstraram compatibilidade com todos os reagentes utilizados na LAMP e o sucesso da amplificação isotérmica foi obtido e observado por eletroforese em gel de agarose.

### Conclusões

A RT-LAMP realizada em microdispositivos de PeT representa um método simples e de baixo custo, que permite a rápida detecção e identificação de sorotipos do vírus da dengue. Devido a simples operação, pelo fato de realizada em uma única etapa e sem a necessidade de instrumentação sofisticada, a RT-LAMP realizada no microchip de PeT tem demonstrado ser uma ferramenta valiosa para diagnósticos moleculares, apresentando grande potencial para aplicações no *point-of-care*. A próxima etapa do trabalho é realizar a detecção visual dos produtos amplificados no microchip através do uso de intercaladores fluorescentes de DNA, o que dispensará o uso da eletroforese em gel para avaliar o sucesso da reação de amplificação.

### Agradecimentos

CNPq, Instituto de Ciências Biológicas (UFG) e Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (UFG).

1. Souza, F. R.; Alves, G. L.; Coltro, W. K. T. *Analytical Chemistry* 2012, 84, 9002-9007.
2. Lanciotti, R. S.; Calisher, C. H.; Gubler, D. J.; Chang, G. J.; Vorndam, A. V. *Journal of Clinical Microbiology* 1992, 30, 545-551.
3. Hagan, K. A.; Bienvenue, J. M.; Moskaluk, C. A.; Landers, J. P. *Analytical Chemistry* 2008, 80, 8453- 8460.
4. Duarte, G. R. M., Price, C. W., Augustine, B.H., Carrilho, E., Landers, J. P., *Analytical Chemistry* 2011, 83, 5182-5189.