

MÉTODO NÃO INVASIVO DE EXTRAÇÃO DE DNA DE PEIXES A PARTIR DE MUCO PARA DIAGNÓSTICO MOLECULAR

RAFAELA BACHAUS CENTENO¹; MARIANA CAVALCANTI NASCIMENTO²;
LEANDRO SILVA NUNES³; KAYLANE PIEPER VASCONCELOS⁴; MARIANA
HÄRTER REMIÃO⁵; VINICIUS FARIAS CAMPOS⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – rafaelabachaus@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – marianacbiotec@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – leandro_donfa@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - kaylanepvasconcelos@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - mh.remiao@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - fariascampos@gmail.com

1. DESCRIÇÃO DA INOVAÇÃO

A presente inovação consiste em um método não invasivo para obtenção de DNA de peixes a partir da coleta de muco cutâneo com swab estéril, associada a um protocolo específico de extração para obtenção de material genético destinado a aplicações em biologia molecular. A proposta está inserida nas áreas de Biotecnologia, Biologia Molecular e Aquicultura e constitui uma alternativa aos métodos convencionais baseados na remoção de tecidos ou coleta de sangue.

O método utiliza o muco superficial como fonte de células epiteliais descamadas contendo material genético do animal. A coleta é realizada pela aplicação suave de um swab estéril sobre a superfície corporal do peixe, permitindo a recuperação do material biológico sem remoção de tecido. A utilização do muco e da técnica de swabbing já foi descrita como alternativa menos invasiva para estudos genéticos em diferentes espécies de peixes (LUCENTINI et al., 2006; LE VIN et al., 2011).

O diferencial da proposta está na associação da coleta por swab a um protocolo específico de processamento e extração. Após a coleta, o material é submetido à lise celular em solução contendo Tris, EDTA, NaCl e SDS, seguida de etapas de precipitação, purificação e ressuspensão do DNA, visando à obtenção de material adequado para PCR e outras análises moleculares. Dessa forma, o método permite a obtenção de DNA por coleta superficial, reduzindo a necessidade de procedimentos invasivos e mantendo a qualidade da amostra.

Essa característica é especialmente relevante para peixes de pequeno porte e organismos utilizados em pesquisas experimentais, nos quais a coleta de tecidos pode interferir no bem-estar e em estudos longitudinais. Protocolos de swabbing em peixes, incluindo *zebrafish*, demonstraram viabilidade para obtenção de DNA destinado à PCR (TILLEY et al., 2020; BOLTON et al., 2024). Além de reduzir o impacto sobre o animal, o método permite amostragens repetidas no mesmo indivíduo, ampliando sua aplicação em genotipagem, identificação genética, monitoramento sanitário, diagnóstico molecular e melhoramento genético na aquicultura.

2. ANÁLISE DE MERCADO

A tecnologia apresenta potencial de aplicação nos setores acadêmico, científico e aquícola. Entre os principais usuários estão laboratórios de pesquisa e

diagnóstico molecular, universidades, centros de pesquisa, empresas de biotecnologia e laboratórios de sanidade aquícola. O método pode ser empregado em genotipagem, identificação genética, monitoramento sanitário, diagnóstico molecular, estudos populacionais e melhoramento genético.

A aquicultura representa um importante mercado para a tecnologia devido à expansão da produção de peixes cultivados. No Brasil, foram produzidas 968.745 toneladas de peixes de cultivo em 2024, crescimento de 9,21% em relação a 2023, sendo 662.230 toneladas de tilápia (PEIXE BR, 2025). Esses dados evidenciam a dimensão do setor e a demanda por ferramentas voltadas ao monitoramento e manejo dos estoques.

As principais alternativas são os métodos convencionais de obtenção de DNA a partir de tecidos, como nadadeiras e sangue, utilizando protocolos de extração ou kits comerciais. Embora eficientes, essas abordagens podem apresentar maior impacto sobre o animal e dificultar amostragens repetidas. A tecnologia proposta busca superar essa limitação por meio da coleta não invasiva de muco.

Existem também estudos que utilizam o muco cutâneo como fonte de DNA, demonstrando a viabilidade da coleta por swab para genotipagem e diagnóstico molecular (LI et al., 2022). Assim, o diferencial da proposta está na combinação entre a coleta superficial por swab, o protocolo específico de extração e a aplicação do DNA obtido em análises moleculares. O método também apresenta abrangência para diferentes espécies de peixes, enquanto parte das soluções anteriores é direcionada a espécies específicas.

Considerando a validação experimental já realizada, o mercado inicial pode compreender laboratórios de pesquisa, universidades, centros de diagnóstico e unidades de pesquisa aquícola, com posterior expansão para empresas e produtores que utilizam análises moleculares. Seu potencial de mercado está associado tanto ao crescimento da aquicultura quanto à demanda por ferramentas de diagnóstico, monitoramento genético e controle sanitário de organismos vivos.

3. ESTRATÉGIA DE DESENVOLVIMENTO E IMPLEMENTAÇÃO

A implementação da tecnologia pode ocorrer por meio da disponibilização do protocolo para laboratórios de pesquisa, instituições de ensino, centros de diagnóstico molecular e unidades de pesquisa em aquicultura. Com o método já validado, vislumbra-se sua aplicação comercial na forma de um kit de coleta e extração de DNA, composto por materiais e instruções padronizadas. Parcerias com instituições de pesquisa e empresas do setor podem contribuir para a ampliação da utilização e transferência da tecnologia.

A tecnologia apresenta potencial de proteção por propriedade intelectual devido à combinação das características técnicas envolvidas na coleta superficial do muco por swab e no protocolo específico de extração de DNA. As abordagens anteriormente identificadas diferem da proposta quanto ao processamento da amostra, às etapas de lise e purificação e à finalidade de aplicação. Dessa forma, a estratégia de proteção deve concentrar-se na caracterização das características técnicas que distinguem o método das soluções já descritas.

O protocolo estabelecido compreende a coleta superficial do muco com swab estéril, sua transferência para solução de extração, lise celular, precipitação de proteínas e impurezas, precipitação e lavagem do DNA e ressuspensão do material genético. O DNA obtido pode ser utilizado em PCR e outras análises

moleculares. Como próximas etapas, prevê-se a avaliação da reprodutibilidade em diferentes condições experimentais e a comparação do desempenho do método com técnicas convencionais de extração, visando consolidar sua padronização e aplicabilidade.

Entre os principais desafios estão a variabilidade na quantidade e composição do muco entre indivíduos e espécies, a presença de possíveis contaminantes e a obtenção de DNA em quantidade e qualidade adequadas para diferentes aplicações. A padronização da coleta e a validação do desempenho também são importantes para ampliar a utilização da tecnologia em diferentes contextos. A tecnologia encontra-se entre os níveis TRL 3 e TRL 4, considerando que o princípio e a metodologia já foram demonstrados experimentalmente e que o método foi validado em condições laboratoriais, incluindo sua aplicação em diferentes espécies de peixes. O estágio atual indica uma tecnologia em fase de consolidação experimental, com necessidade de ampliar a avaliação de reprodutibilidade e desempenho para avançar em direção a aplicações mais amplas.

4. RESULTADOS ESPERADOS E IMPACTO

A tecnologia tem como principal impacto esperado a redução da invasividade associada à obtenção de material genético de peixes sem perder a qualidade do DNA coletado. A coleta de muco por swab dispensa a remoção de tecidos ou a coleta de sangue e permite a manutenção do animal após a amostragem, favorecendo práticas de pesquisa e manejo que priorizem o bem-estar animal. Além disso, a possibilidade de realizar novas coletas no mesmo indivíduo amplia sua aplicação em estudos que necessitam de acompanhamento ao longo do tempo.

No contexto da aquicultura e da pesquisa, espera-se que o método possibilite a obtenção de material genético para diagnóstico molecular, identificação genética, genotipagem, estudos populacionais e programas de melhoramento, sem comprometer a integridade física dos animais. Essa característica pode ser particularmente relevante para peixes de pequeno porte e modelos experimentais, nos quais a utilização de procedimentos invasivos pode limitar o acompanhamento dos indivíduos.

A tecnologia apresenta potencial de redução dos custos associados à obtenção de DNA devido à possibilidade de utilização de reagentes laboratoriais convencionais e à menor dependência de kits comerciais específicos. A partir da comparação com métodos convencionais de extração, é possível realizar uma estimativa preliminar dos custos envolvidos, permitindo avaliar o potencial de redução de despesas proporcionado pelo método proposto.

A etapa de desenvolvimento comercial deverá incluir a determinação do custo por amostra, a comparação econômica com métodos convencionais e a avaliação dos custos relacionados à produção e distribuição de uma eventual versão comercial do método.

A perspectiva de desenvolvimento consiste na ampliação da validação do método para diferentes espécies de peixes, condições de cultivo e aplicações moleculares. A consolidação do protocolo poderá favorecer sua incorporação em rotinas de pesquisa, diagnóstico molecular e monitoramento sanitário e genético. Futuramente, a tecnologia também poderá ser adaptada para uma solução padronizada de coleta e extração, como um kit, ampliando sua facilidade de

utilização e seu potencial de aplicação em diferentes laboratórios e sistemas de produção aquícola.

5. CONCLUSÕES

O método proposto apresenta uma alternativa não invasiva para obtenção de DNA de peixes por meio da coleta de muco cutâneo com swab estéril, associada a um protocolo específico de extração e purificação. A proposta possibilita a obtenção de material genético sem a necessidade de remoção de tecidos ou coleta sanguínea, permitindo a manutenção dos indivíduos e a realização de novas amostragens. Essas características ampliam seu potencial de aplicação em pesquisas genéticas, diagnóstico molecular, genotipagem, identificação genética e monitoramento sanitário e genético na aquicultura.

A continuidade do desenvolvimento da tecnologia deve priorizar sua padronização, incluindo a avaliação da qualidade e reprodutibilidade do DNA obtido, a comparação com métodos convencionais e a aplicação em novas espécies e condições experimentais. A consolidação desses aspectos poderá favorecer a transferência da tecnologia para laboratórios de pesquisa e diagnóstico e, posteriormente, para aplicações na aquicultura, contribuindo para a adoção de estratégias de obtenção de material genético com menor impacto sobre os animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA PISCICULTURA - Peixe BR. Acesso em 30 ago. 2026. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/#>>.

GRUNOW, B; STRAUCH, S. M. Status assessment and opportunities for improving fish welfare in animal experimental research according to the 3R-Guidelines. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 33, n. 4, p. 1075–1093, 12 maio 2023.

LUCENTINI, L.; PALOMBA, A.; LANCIONI, H.; NATALI, M.; FAUSTO, P. A nondestructive, rapid, reliable and inexpensive method to sample, store and extract high-quality DNA from fish body mucus and buccal cells. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 257–260, 2006.

LE VIN, A. L.; ADAM, A.; TEDDER, A.; ARNOLD, K. E.; MABLE, B. K. Validation of swabs as a non-destructive and relatively non-invasive DNA sampling method in fish. **Molecular Ecology Resources**, v. 11, n. 1, p. 107–109, 2011.

TILLEY, C. A.; CARREÑO GUTIERREZ, H.; SEBIRE, M.; OBASAJU, O.; REICHMANN, F.; KATSIADAKI, I.; BARBER, I.; NORTON, W. H. J. Skin swabbing is a refined technique to collect DNA from model fish species. **Scientific Reports**, v. 10, 18212, 2020.

GUI, L.; LI, X.; LIN, S.; ZHAO, Y.; LIN, P.; WANG, B.; TANG, R.; GUO, J.; ZU, Y.; ZHOU, Y.; LI, M. Low-Cost and Rapid Method of DNA Extraction from Scaled Fish Blood and Skin Mucus. **Viruses**, v. 14, n. 4, p. 840, 2022.