



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária

Graduação em Agronomia

CAMILA IVO CONCEIÇÃO VILARINHO FERNANDES JUNQUEIRA

**Diagnósticos *Point of Care*: Estado da Arte e Perspectivas para o
Agronegócio**

BRASÍLIA/DF

DEZEMBRO DE 2023

CAMILA IVO CONCEIÇÃO VILARINHO FERNANDES JUNQUEIRA

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (UnB), como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Professor Nicolau Brito da Cunha

BRASÍLIA/DF

DEZEMBRO DE 2023

CAMILA IVO CONCEIÇÃO VILARINHO FERNANDES JUNQUEIRA

Trabalho de Conclusão de curso apresentado à Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília (UnB), como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Agronomia.

Brasília, 19 de Dezembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA

NICOLAU BRITO DA CUNHA - Orientador
Doutor

EMANUEL FELIPE MEDEIROS DE ABREU
Doutor

ELIZA FABRICIO DE MELO BELLARD DO NASCIMENTO
Doutora

ARMANDO FORNAZIER
Doutor

BRASÍLIA/DF

DEZEMBRO DE 2023

IJ95

Ivo Conceição Vilarinho Fernandes Junqueira, Camila
/ Camila Ivo Conceição Vilarinho Fernandes Junqueira;
orientador Nicolau Brito da Cunha; co-orientador Emanuel
Felipe Medeiros do Nascimento. -- Brasília, 2023.
76 p.

Monografia (Graduação - Agronomia) -- Universidade de
Brasília, 2023.

1. Point of Care. 2. Diagnósticos. 3. Agronegócio. 4.
Mercado. I. Brito da Cunha, Nicolau, orient. II. Felipe
Medeiros do Nascimento, Emanuel, co-orient. III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus orientadores, Drs. Nicolau da Cunha e Emanuel Abreu, por todos os ensinamentos e apoio durante a execução deste trabalho em um período tão curto, e por despertarem em mim um amor ainda maior pela biotecnologia e pelo agronegócio.

Agradeço à equipe da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia por promover uma aprendizagem tão ampla durante minha formação e proporcionar um ambiente de trabalho acolhedor e amoroso, em especial à Dra. Érika Albuquerque pelo acolhimento e à Dra. Juliana Dantas pelo meu primeiro contato com a pesquisa científica.

Agradeço aos meus sócios Eliza Bellard e Leonardo Vidal, pela Kidera Biotecnologia e por todo o aprendizado e crescimento profissional e pessoal.

Agradeço à minha família. À minha mãe, Lígia Fernandes, por todo o apoio e carinho, e aos meus irmãos Ana Carolina Ponciano, Glauco Júnior e Auler Junqueira pela torcida.

Às amigas de infância Letícia Noronha, Ellen Bowen, Rafaela Siqueira, Amanda Ribeiro, Raiane dos Santos e Mariana Alencar por acompanharem de perto minha dedicação e meu crescimento. É uma honra crescer ao lado de vocês.

Às amigas Flávia Cardim e Mariana Diniz pelo carinho, amor e apoio em momentos que nem eu enxergava que eram necessários.

Ao meu amigo Pedro Paulo por todos os cafés e acolhimento.

Aos colegas e amigos da Agronomia, sem vocês o curso teria sido muito mais árduo, em especial à Caroline Torres que se tornou grande amiga durante a trajetória da graduação.

À Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, por promover um ensino de excelência e contribuir para a profissional que estou me tornando.

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2. METODOLOGIA..... | 14 |
| 2.1. Amplificação Isotermal..... | 15 |
| 2.1.1. Amplificação Exponencial..... | 15 |
| 2.1.2. A Amplificação isotermal para dispositivos PoCT..... | 17 |
| 2.1.3. Teste LAMP..... | 17 |
| 2.1.4. Necessidades e vantagens do método LAMP..... | 19 |
| 2.1.5. Variações dos teste LAMP..... | 20 |
| 2.1.6. O mercado do teste LAMP..... | 22 |
| 2.1.7. Aplicações do teste LAMP para o setor Agro..... | 23 |
| 2.2. Testes de Fluxo Lateral..... | 24 |
| 2.2.1. Princípios dos testes de fluxo lateral..... | 24 |
| 2.2.2. Tipos de teste de fluxo lateral..... | 25 |
| 2.2.2.1. Testes LFIA..... | 26 |
| 2.2.2.2. Testes NALFIA e NALF..... | 26 |
| 2.2.3. Vantagens e Desvantagens dos testes de Fluxo Lateral..... | 28 |
| 2.2.4. Aplicação dos testes de Fluxo Lateral para Setor Agro..... | 29 |
| 2.3. Biossensores..... | 30 |
| 2.3.1. Tipos de Sensores..... | 31 |
| 2.3.1.1. Sensores Voltamétricos..... | 31 |
| 2.3.1.2. Sensores de Impedância..... | 32 |
| 2.3.1.3. Sensores Potenciométricos..... | 32 |
| 2.3.1.4. Sensores Condutimétricos..... | 32 |
| 2.3.1.5. Sensores de Canais Iônicos..... | 32 |
| 2.3.1.6. Sensores Capacitivos..... | 33 |
| 2.3.1.7. Sensores Piezométricos..... | 33 |
| 2.3.1.8. Sensores de Ondas Acústicas..... | 33 |
| 2.3.1.9. Biossensores ópticos..... | 34 |
| 2.3.1.10. Biossensores Térmicos..... | 34 |
| 2.3.2. Aplicações dos Biossensores para o setor Agro..... | 34 |
| 2.4. Regulamentação..... | 35 |
| 2.4.1. Outras regulamentações..... | 39 |
| 2.5. Produtos Comerciais e em Desenvolvimento no setor Agro..... | 40 |
| 2.5.1. Principais produtos comerciais para o setor Agro..... | 43 |
| 2.6 Análise Econômica e Mercadológica..... | 46 |
| 2.6.1 Mercado de diagnósticos Point of Care para o Agronegócio..... | 46 |
| 2.6.2. O mercado Brasileiro..... | 48 |
| 2.6.3. Perspectivas e Tendências do Setor Agro..... | 49 |
| 2.6.4. Desafios do mercado brasileiro..... | 52 |
| 3. CONCLUSÃO..... | 52 |
| 4. REFERÊNCIAS..... | 53 |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figura 1 | Etapa acíclica da reação LAMP e alças formando estruturas de halteres, oriundas das interações das regiões complementares da fita de DNA. Após uma hora de processo, este alcança uma quantidade exponencial de 10^6 cópias da fita molde. O processo é realizado a uma temperatura constante entre 60 e 65°C. | 20 |
| Figura 2 | Etapas do processo de detecção do teste LAMP. Após a coleta de amostra (1), essa amostra deve ser macerada e um mix com as enzimas e primers atuantes no processo deve ser adicionado ao tubo. O tubo passa pelo processo de aquecimento a uma temperatura constante (60-65°C) (3) para que a reação ocorra. A detecção do produto amplificado pode ser visualizado (3) de várias maneiras, dentre elas, a integração de partículas coloridas ou fluorescentes acopladas ao molde de amplificação, que permite a visualização do produto amplificado no próprio tubo de reação, ou acoplamento de partículas que gerem uma interação que pode ser identificada através de um teste de fluxo lateral (LFA) ou através da aplicação em um chip sensor, que interpreta a mostra e a transforma em mensurável. | 23 |
| Figura 3 | Teste de fluxo lateral e seus componentes: <i>Sample Pad</i> , <i>Conjugate Pad</i> , Membrana e <i>Absorbent Pad</i> . | 26 |
| Figura 4 | Mecanismo de reconhecimento anticorpo-antígeno da metodologia LFIA, formato sanduíche, utilizando nanopartículas de ouro coloidal. | 27 |
| Figura 5 | Mecanismo de reconhecimento de ácidos nucleicos do teste NALFIA, com reconhecimento de um produto amplificado via LAMP. A reação LAMP nesse caso, é realizada utilizando uma tag de biotina (B) acoplada ao primer FIP e após 30 a 60 minutos de incubação à temperatura constante (60-65°C), se adiciona à reação uma sonda marcada com uma tag de isotiocianato de fluoresceína (F) e a amostra é incubada por mais 10 minutos ainda à temperatura constante. Por fim, é adicionado à reação um buffer de detecção que contém anticorpos de coelho anti-tag de isotiocianato de fluoresceína (G) acoplados a nanopartículas de ouro coloidal. A detecção ocorre após a amostra percorrer a membrana do teste e a tag B se ligar à linha teste ao mesmo tempo que a tag F se ligar aos anticorpos anti-tag F (G). | 28 |
| Figura 6 | Mecanismo de reconhecimento de ácidos nucleicos do teste NALF. Após a amplificação, o produto da amplificação (ou seja, o ss-amplicon, em verde e vermelho) é aplicado na tira e hibridiza com sondas, as quais estão ligadas a nanopartículas (nesse caso, ouro coloidal). Após aproximadamente 10 minutos, os amplicons são detectados através da ligação de um anticorpo específico para a sonda de captura. | 29 |
| Figura 7 | Modelo de arquitetura de um biossensor. O bioreceptor reconhece produtos oriundos de interações moleculares ou realiza uma interação com o próprio analito alvo, essas interações são processadas por um transdutor, que pode ser de diversos tipos. O tipo de transdutor é escolhido de forma a processar uma determinada interação do bioreceptor. O transdutor é responsável por processar e transformar a interação em um sinal quantificável que pode ser facilmente lido e interpretado pelo usuário. | 32 |
| Figura 8 | Teste ClearView™ da empresa Abbot Laboratories para detecção de <i>S. aureus</i> . O kit fornece um resultado em 5 minutos e pode ser armazenado à temperatura ambiente. Contém dois reagentes, uma embalagem contendo 25 tiras de detecção, 25 estantes de suporte e 25 tubos de ensaio | 42 |
| Figura 9 | Sensor Lactate Scout Vet da empresa EFK Diagnostics. O sensor possui tamanho de um chip e é do tipo amperométrico e o aparelho de análise tem tamanho pequeno de 91 x 46 x 21mm. Ao entrar em contato com uma amostra sanguínea através do sensor, o resultado é mostrado no visor do aparelho em até 10 segundos | 42 |
| Figura 10 | Sensor Hemovet da empresa EFK Diagnostics para análise de hemoglobina e hematócrito. O sensor fica alocado no interior de uma aparelho analisador e é do tipo fotométrico, o analisador possui tamanho compacto de 160 mm x 160mm x 68mm e pesa 700g. Ao inserir uma amostra sanguínea, coletada em uma microcuveta, no interior do aparelho analisador, o resultado aparece no visor entre 25 e 60 segundos. | 43 |

- Figura 11** Produtos TotalTrait™ Comb for Soy (1); TotalTrait™ Comb for Corn (2) e QuickScan (3) da empresa Envirologix. Os testes TotalTrait™ para soja e milho são compostos por múltiplas tiras de fluxo lateral, formando um pente, o kit também inclui copos de amostra e pipetas de transferência descartáveis e não contém reagente, o resultado é obtido apenas com água, o resultado é revelado em até 5 minutos. O aparelho QuickScan é um scanner portátil capaz de ler e interpretar os resultados obtidos da testagem de fluxo lateral, basta alocar o teste em uma gaveta. Sua capacidade de leitura é de até 22 testes. **44**
- Figura 12** Produtos ImmunoStrip® (1); AgriStrip (2) e AgraStrip® Pro WATEX® (3) das empresas Agdia, Bioreba e Romer Lab's respectivamente. **45**
- Figura 13** Produtos AmplifyRP® (1) e AmplifyRP® Acceler8® (2) da empresa Agdia. **46**
- Figura 14** Produtos BIACORE™ (1) e seus derivados; IBIS T5000 (2); SPREETA™ (3) e NECi (4) das empresas Cytiva; Windsor Scientific Ltd; Sensata e Nitrate Elimination Co. Inc, respectivamente (Adaptado). A tecnologia BIACORE™ é diversa, composta por aparelhos sensores e chips de detecção baseados em ressonância plasmônica de superfície (SPR), além de reagentes para testagem e um software de leitura. Já o aparelho IBIS T5000 é um aparelho grande, mas portátil, composto por um sensor de espectrômetro de massa capaz de interpretar ácidos nucleicos. O aparelho SPREETA™ é um microsensor (do tamanho de uma moeda), que também se baseia em SPR. O aparelho NECi é um sensor fotométrico conectável ao celular. **47**

LISTA DE ABREVIATURAS

ABA – Ácido Abscísico
ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas
ABTV – *Abaca bunchy top* vírus
ACLSV – Vírus da corrosão do caule da maçã
Ag – Prata
AgCl – Cloreto de Prata
AlN – Nitreto de Alumínio
AMV-RT – *Avian Myeloblastosis Virus* transcriptase reversa
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AP – *Absorbent pad*
AS-LAMP – Amplificação Alelo-Específica
ASSURED – *Affordable, Specific, Sensitive, Use-friendly, Rapid, Equipment-free and Deliverable*
BBrMV – Vírus do mosaico das brácteas da bananeira
BIP – *Backward Inner Primer*
CAGR – Taxa de crescimento anual composta
Certificado BPF – Certificado de Boas Práticas de Fabricação
CMV – Vírus do mosaico de culturas como bananeira
COVID – *Corona Virus Disease*
CP – *Conjugate Pad*
DMI – Fungicidas Inibidores de Demetilação
DN – Doença de *Newcastle*
DNA – Ácido Desoxirribonucleico
ds-amplicon – amplicon de fita dupla
eLAMP – LAMP Elétrica
ELISA – *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
E-SDA – *Exponential Strand Displacement Amplification*
EXPAR – *Exponential Amplification Reaction*
FET – *Field-Affect Transistors*
FIP – *Foward Inner Primer*
FITC – Isotiocianato de Fluoresceína
GaAS – Arseneto de Gás Gálio
GC-MS – Cromatografia-gasosa de espectrometria de massa
HDA – *Helicase-Dependent Amplification*
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HRCA – *Hyperbranded Rolling Circle Amplification*
Hz – Hertz
Id-LAMP – Disco LAMP
IoT – Internet das Coisas

ISO – *International Organization for Standardization*
KCL – Cloreto de Prata
LAMP – *Loop-mediated isothermal amplification*
LC-MS – Cromatografia-líquida de espectrometria de massa
LF – *Lateral Flow*
LFA – *Lateral Flow Assays*
LFIA – *Lateral Flow (Immuno)Assays*
LiNbO₃ – Niobato de Lítio
mLAMP – LAMP Multiplex
NALC – (N-acetyl-L-Cysteine)-NaOH
NALF – *Nucleic acid lateral flow assay*
NALFIA – *Nucleic acid lateral flow immunoassay*
NASBA – *Sequence-Based Amplification*
NPT – *Near-Patient test*
OGM – Organismo Geneticamente Modificado
OMS – Organização Mundial da Saúde
PCR – *Polymerase Chain Reaction*
PFF – Pesticidas Profenofós
PG-RCA – *Primer-Generation Rolling Circle Amplification*
PLRV – Vírus do enrolamento da folha da batata
PoCT – *Point of Care*
PSAV – Vírus da Peste Suína Africana
Q-LAMP – LAMP Quantitativo em Tempo Real
qPCR – Quantitative PCR
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
RFLP-LAMP – Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição LAMP
RNA – Ácido Ribonucleio
RPA – *Recombinase Polymerase Amplification*
RT – Responsável Técnico
RT-LAMP – Transcrição Reversa LAMP
SDHI – Fungicidas Inibidores de Succinato Desidrogenase
SP – *Sample pad*
SPR – Ressonância Plasmônica de Superfície
SUS – Sistema Único de Saúde
SVBV – Vírus da faixa venosa do morangueiro
SWOT – *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*
TB – *Mycobacterium tuberculosis*
TFV – Taxa de fiscalização de Vigilância Sanitária
TRL – Teste Laboratorial Remoto
TYLCV – Vírus da folha amarela do tomateiro

VC – Voltametria Cíclica

VOQ – Voltametria de Onda Quadrada

VPD – Voltametria de Pulso Diferencial

WGA – Whole Genome Amplification

WSSV – Vírus da síndrome da mancha branca

ZnO – Óxido de Zinco

RESUMO

No cenário pós-pandemia em função do coronavírus 2019 (COVID-19), o uso de testes rápidos que permitem um diagnóstico precoce, sensível e preciso para a detecção de patógenos, mostrou-se extremamente eficaz na mitigação e controle de doenças com elevado potencial de dano para a saúde humana, além disso, apresenta uma grande versatilidade, pois é uma ferramenta que vem sendo explorada em outros setores. Os testes *Point of Care* (PoCT) permitem a redução do tempo necessário para obtenção de resultados, apresentam facilidade de uso e interpretação dos resultados, além de serem sistemas de baixo custo de desenvolvimento, objetivando características como miniaturização e portabilidade, sem que haja perda de sensibilidade e precisão de detecção. No agronegócio o uso dessas tecnologias ainda é bastante incipiente, com poucas empresas e institutos de pesquisas focados no desenvolvimento e aplicações de diagnósticos, entretanto, apresentando grande variedades de soluções para a detecção de fitopatógenos, resistência à químicos, organismos geneticamente modificados (OGMs), doenças de animais, além do monitoramento da qualidade da água, solo e alimentos. Algumas tecnologias apresentam maior utilidade nesse setor, em especial tecnologias que envolvam amplificação isotermal, testes de fluxo lateral, biossensores e a integração entre elas. Nos últimos anos, o mercado do agronegócio brasileiro vem apresentando uma tendência de crescimento para o desenvolvimento de dispositivos PoCT em decorrência da popularização desses tipos de testes e empenho por parte da pesquisa científica brasileira em desenvolver tecnologias para este setor. Assim, o surgimento de Startups do ramo e projetos de pesquisa envolvendo diagnósticos para a área Agro de empresas brasileiras já consolidadas, vêm aumentando. Com isso, este estudo teve como objetivo realizar uma revisão sobre as principais metodologias utilizadas no desenvolvimento de dispositivos PoCT para o setor Agro, uma novidade para o Brasil. Além disso, realizar um levantamento, através de pesquisa extensiva na literatura, análise de relatórios de análises de mercado de empresas especializadas na área e análise de sites de empresas do ramo, buscando produtos comerciais existentes de empresas estrangeiras que são os principais players do mercado brasileiro de diagnósticos atualmente, avaliando as tecnologias mais utilizadas e suas aplicações para o setor em questão, permitindo pontuar perspectivas, tendências e desafios deste mercado emergente.

Palavras-Chave: *Point of Care*, Diagnóstico, Agronegócio, Mercado.

ABSTRACT

In the post-pandemic scenario due to the 2019 coronavirus (COVID-19), the use of rapid tests allowing for early, sensitive, and accurate diagnosis of pathogens has proven to be extremely effective in the mitigation and control of diseases with high potential harm to human health. Furthermore, it exhibits great versatility as a tool that has been explored in other sectors. Point of Care (PoCT) tests enable a reduction in the time required for obtaining results, present ease of use and interpretation of results, and are low-cost development systems. They aim for characteristics such as miniaturization and portability without sacrificing sensitivity and precision of detection. In the agribusiness sector, the use of these technologies is still quite incipient, with few companies and research institutes focused on the development and applications of diagnostics. However, they present a wide variety of solutions for the detection of phytopathogens, resistance to chemicals, genetically modified organisms (GMOs), animal diseases, and the monitoring of water, soil, and food quality. Some technologies are more useful in this sector, particularly those involving isothermal amplification, lateral flow tests, biosensors, and their integration. In recent years, the Brazilian agribusiness market has been showing a growth trend in the development of PoCT devices due to the popularization of these types of tests and the commitment of Brazilian scientific research to develop technologies for this sector. Thus, the emergence of startups and research projects involving diagnostics for the Agro sector by already established Brazilian companies has been increasing. Consequently, the aim of this study was to conduct a review of the main methodologies used in the development of PoCT devices for the Agro sector, a novelty for Brazil. Additionally, it sought to carry out a survey through extensive literature research, analysis of market analysis reports from specialized companies in the field, and examination of websites of industry companies. The goal was to identify existing commercial products from foreign companies that currently dominate the Brazilian diagnostics market, evaluating the most commonly used technologies and their applications for the relevant sector. This allowed for outlining perspectives, trends, and challenges of this emerging market.

Keywords: *Point of Care*, Diagnosis, Agribusiness, Market.

1. INTRODUÇÃO

O conceito de *Point of Care Testing* (PoCT) ainda não é completamente estabelecido, podendo variar de acordo com o país ou instituição. Em 2016, enquanto a *International Organization for Standardization* (ISO) trouxe o conceito de PoCT, como um teste que é performado próximo ao local de atendimento, com resultado que pode acarretar uma possível mudança nos cuidados do paciente (ISO, 2016), em 2017 a União Europeia, por meio do regulamento 746/2017, trouxe o conceito de Dispositivo de teste próximo ao paciente (*Device NPT*). Esse conceito consiste em qualquer dispositivo que não seja destinado para autoteste, mas destina-se a testagem fora dos laboratórios, geralmente próximo ou no local de atendimento por um profissional de saúde (Buchta *et al.*, 2023).

No Brasil, apenas duas regulamentações trazem abordagem a respeito do termo PoCT, ambas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as quais são as únicas que regulam esse tipo de produto. A primeira, publicada em 2005, traz o conceito de Teste Laboratorial Remoto (TLR) e a segunda, publicada em 2015, o conceito de PoCT: (I) RDC nº 302/2005: TLR é um “Teste realizado por meio de um equipamento laboratorial situado fisicamente fora da área de um laboratório clínico. Também chamado Teste Laboratorial Portátil -TLP, do inglês *Point-of-care testing* - PoCT”. (II) RDC nº 36/2015: PoCT é uma “Testagem conduzida próximo ao local de cuidado ao paciente, inclusive em consultórios e locais fora da área técnica de um laboratório, por profissionais de saúde ou por pessoal capacitado pelo Ministério da Saúde e ou Secretarias de Saúde Estaduais e Municipais”.

Uma crescente preocupação com a saúde humana fez com que instituições de pesquisa voltassem o olhar para dispositivos mais simples, de baixo custo e que atendessem o paciente no próprio local de atendimento, mais especificamente durante 1980 (Lee-Lewandrowski; Lewandrowski, 2001). Com a finalidade de reduzir o tempo de resposta do diagnóstico de pacientes internados, alguns hospitais nos EUA passaram a desenvolver seus próprios testes com tecnologias para detecção rápida de glicose sem preparo ou aprovação de organizações regulamentadoras (Fairclough *et al.*, 1983; Lee-Lewandrowski; Lewandrowski, 2001). Essas alternativas eram cada vez mais requisitadas em áreas médicas, visto que até então a única solução era enviar amostras para laboratórios, o que demandava muito tempo para a obtenção dos resultados (referência). Com a evolução da metodologia e a certificação da sua eficiência, outros aparelhos e dispositivos com a mesma finalidade foram desenvolvidos, a ponto de em 1995, 90% dos hospitais utilizavam algum tipo de testagem descentralizada (Altieri; Camarca, 2001). Além disso, nos anos 2000, uma variedade de aparelhos para

detecção de compostos voláteis eletrólitos, glicose, hemoglobina, proteínas, coagulação sanguínea, metabólitos, entre outros, foram desenvolvido (Mor; Waisman, 2000; Kozel *et al.*, 2017).

Exames laboratoriais ainda são muito utilizados, principalmente em situações em que não há sistemas mais práticos de detecção de moléculas e microrganismos *in situ*. Métodos comprovadamente eficazes como *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA), *Polymerase Chain Reaction* (PCR), exames glicêmicos e exames de detecção de compostos na urina e sangue são realizados em laboratórios e por profissionais qualificados, promovendo um resultado sensível e específico. Entretanto, o avanço da tecnologia PoCT, permitiu que testes e exames fossem adaptados e realizados por aparelhos e sistemas mais simples, rápidos, práticos, portáteis e na maioria dos casos mais baratos. Com isso, a tendência de não necessitar mais de um laboratório para realizar esses testes é cada vez maior e já é uma realidade no Brasil e no mundo, permitindo que os laboratórios se especializem em desenvolver esses produtos e toda a infraestrutura seja direcionada para tal (Kozel *et al.*, 2017).

Os diagnósticos PoCT possuem aplicação principal na área médica e de diagnóstico clínico com direcionamento principal para a detecção de diversas doenças humanas, também é a área que mais exige desenvolvimento acelerado no desenvolvimento desse tipo de diagnóstico, além de ser uma área extremamente exigente quanto aos quesitos sensibilidade e qualidade dos diagnósticos. Os testes PoCT possuem grande potencial de melhorar os serviços de saúde, pois o acesso a essas tecnologias de fácil manuseio e baratas, permitem uma tomada de decisão mais prudente (Drain *et al.*, 2014), tanto na área da saúde humana e setor farmacêutico quanto para uso doméstico, e são utilizados para detectar uma enorme gama de doenças humanas como COVID-19 (Rezaei *et al.*, 2021), doenças cardiovasculares (Santos, 2021; Verdú *et al.*, 2012; Johann, 2023), doenças hepáticas Gassó de Campos *et al.*, 2003), monitorar o perfil lipídico (Xavier *et al.*, 2019) entre diversos outros.

As tecnologias PoCT já são amplamente difundidas, principalmente na saúde humana, com isso, seu uso em outros setores tem apresentado um crescimento elevado, em especial no setor Agro, o que foi possível perceber com a execução deste trabalho.

Uma revisão sobre as principais metodologias utilizadas nesse setor, como a metodologia de amplificação isotermal, em especial a tecnologia *Loop-mediated isothermal amplification* (LAMP), a tecnologia de teste de fluxo lateral e a tecnologia de biossensores, além da integração destas metodologias, permitirá uma maior compreensão dos dispositivos comercializados atualmente.

Essas metodologias têm sido utilizadas para detecção de importantes fitopatógenos, doenças animais, identificação de organismos geneticamente modificados, monitoramento da qualidade da água, do solo e de alimentos, possuindo portanto, aplicação na agricultura, veterinária e outras áreas do setor Agro. Ademais, uma visão sobre os presentes avanços, perspectivas e tendências

do mercado brasileiro, permitirá uma compreensão mais detalhada sobre essa tecnologia no agronegócio.

2. METODOLOGIA

Uma revisão sobre as principais tecnologias destinadas para o setor Agro permite compreender a versatilidade dessa ferramenta, para isso, uma pesquisa extensiva na literatura permitiu a identificação de diversos estudos realizados no Brasil e no exterior do país envolvendo o desenvolvimento de tecnologias PoCT. Além disso, uma visão do mercado atual desta ferramenta no Brasil é necessária para reconhecer quais são suas perspectivas e tendências, assim como concluir que é um mercado emergente. Para isso, buscas na literatura foram realizadas neste trabalho, objetivando extrair informações sobre as principais metodologias utilizadas, suas aplicações e uma comparação entre elas, assim como identificar os principais produtos comerciais existentes e suas respectivas empresas desenvolvedoras através de uma análise de seus respectivos sites, com endereços eletrônicos (tabela2). Para obter informações de mercado, relatórios de empresas que realizam análises de mercado desta ferramenta foram consultadas para identificação das empresas do ramo de diagnóstico PoCT e seus produtos, além disso, uma consulta ao relatório de 2023 da Radar Agtech permitiu realizar um levantamento sobre empresas e startups brasileiras (tabela 3) que possuem produtos ou projetos para o setor em questão.

2.1. Amplificação Isotermal

A amplificação isotermal de ácidos nucleicos é um processo simples, rápido e eficiente de acumulação ou multiplicação de ácidos nucleicos realizado a uma temperatura constante (Gill; Ghaemi, 2008). A amplificação isotermal não requer equipamentos complexos de termociclagem para garantir a desnaturação, anelamento e extensão de ácidos nucleicos como é realizado via PCR. Essa metodologia permite que a amplificação seja realizada sob uma única temperatura e com a utilização de aparelhos bem simples, como um banho-maria por exemplo. A metodologia pode ser dividida em três grupos, que se baseiam em sua reação cinética: (I) amplificação exponencial, (II) linear ou (III) em cascata (Gill; Ghaemi, 2008; Zhao *et al.*, 2015), onde neste estudo, será abordada a exponencial, com o objetivo de direcionar a análise para as metodologias mais utilizadas no desenvolvimento de diagnósticos PoCT, uma vez que para amplificação linear e em cascata, não foram encontradas muitas soluções PoCT na literatura.

A tecnologia tem sido integrada a biossensores e testes de fluxo lateral para amplificação e detecção de DNA, RNA, células, proteínas, moléculas pequenas e íons. Isso é possível pois avanços na tecnologias permitem que o amplicon, resultado da reação, seja utilizado na construção de nanomateriais versáteis e acoplados a sondas para serem detectados, possibilitando sua utilização na biomedicina, bioimagem e biossensoriamento (Zhao *et al.*, 2015).

Dessa forma, diversas metodologias têm se mostrado sensíveis o suficiente para comparação com métodos realizados por laboratórios, garantindo que se obtenha detecção *on site* de qualidade e sensibilidade.

2.1.1. Amplificação Exponencial

A amplificação isothermal exponencial é a que é melhor estabelecida para aplicação em diagnósticos, devido à sua alta taxa de amplicons (Yoshikawa, 2022), o que garante que dispositivos de diagnósticos que sejam integrados à esse tecnologia sejam mais sensíveis que aqueles que utilizam outros métodos.

Mais de dez tipos de amplificação exponencial foram desenvolvidos em diversos laboratórios. Dentre elas então a *Nucleic Acid Sequence-Based Amplification* (NASBA), *Exponential Strand Displacement Amplification* (E-SDA), *Hyperbranched Rolling Circle Amplification* (HRCA), *Primer-Generation Rolling Circle Amplification* (PG-RCA), *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP), *Helicase-Dependent Amplification* (HDA), *Recombinase Polymerase Amplification* (RPA), *Exponential Amplification Reaction* (EXPAR) e *Whole Genome Amplification* (WGA). A maioria destes métodos de amplificação (NASBA, E-DAS, LAMP, HDA e RPA), amplificam amostras de ácidos nucleicos utilizando dois ou mais primers, enquanto outros (HRCA, PG-RCA e EXPAR) utilizam uma única amostra funcional para amplificar o alvo (Zhao *et al.*, 2015).

Alguns dos métodos considerados mais utilizados, permitem uma maior compreensão da metodologia de amplificação isothermal, como a tecnologia NASBA, que foi desenvolvida por Kievits e colaboradores em 1991 e permite a utilização do DNA ou RNA como sendo os próprios alvos da reação (Zatti, 2016). A amplificação NASBA requer três enzimas durante a reação: *Avian Myeloblastosis Virus* transcriptase reversa (AMV-RT), RNase H e T7 RNA polimerase. Antes da fase cíclica da reação, uma série de reações mediadas pela transcriptase reversa e RNase H geram várias moléculas de DNA de fita dupla com um promotor T7 em suas pontas, para então na fase cíclica ocorrer a transcrição mediada pela T7 polimerase (Zhao *et al.*, 2015; Zatti, 2016; Deng *et al.*, 2017).

A E-SDA, é uma amplificação que utiliza apenas duas enzimas, sendo elas uma enzima de restrição *HincII* que reconhece sítios de restrição originais e a DNA polimerase. Nessa amplificação, os dois primers se acoplam ao DNA após a desnaturação e o hibridizam, e ao final são formadas quatro tipos de moléculas de DNA, que permitem o início da etapa cíclica (Zatti, 2016).

A amplificação HRCA se baseia em plasmídeos e material genético de vírus e foi demonstrada pela primeira vez em 1995 por Fire e Xu (1995). Os autores mostraram que é possível replicar amostras de DNA circular, gerando múltiplas cópias. Para a amplificação são necessários quatro componentes: DNA polimerase, o DNA circular que será o objeto de amplificação, primers e Desoxirribonucleotídeos Fosfatados (dNTPs) (Zatti, 2016). De acordo com Ali *et al.* (2014), o processo também pode ser utilizado para moléculas de RNA, e a reação origina centenas de repetições em *tandem* complementares ao modelo circular.

A amplificação LAMP pode promover excelente especificidade em uma reação de apenas 1 passo, a qual será descrita com maiores detalhes nesta revisão.

O método HDA foi publicado pela primeira vez em 2004, e se baseia na replicação celular, de forma que a enzima DNA helicase é quem media a reação. Esse método mimetiza o mecanismo *in vivo* e possui um esquema de reação simples que possui potencial de acoplamento a dispositivos portáteis de diagnóstico (Vincent *et al.*, 2004).

A amplificação EXPAR é uma forma única de amplificação isothermal que sintetiza pequenos oligonucleotídeos para atuar como primers e é uma reação análoga a uma reação em cadeia, que também resulta em um acúmulo exponencial de oligonucleotídeos em poucos minutos.

Finalmente, a amplificação WGA é a única, dentre as citadas anteriormente, que utiliza primers aleatórios ou primase, ao invés de realizar a amplificação de sequências específicas definidas por primers específicos (Zhao *et al.*, 2015).

2.1.2. A Amplificação isothermal para dispositivos PoCT

As técnicas de amplificação isotérmica de ácidos nucleicos são frequentemente integradas a dispositivos miniaturizados ou portáteis, incluindo chips microfluídicos, plataformas capilares e tiras de teste. Os Sistemas microfluídicos têm sido desenvolvidos e observados com bastante expectativa devido a seus avanços em redução de consumo de amostras e reagentes, além de funções integradas, alta portabilidade e curto tempo de resposta. Microssistemas isotérmicos podem ser desenvolvidos para garantir maior simplicidade e portabilidade com baixo consumo de energia, permitindo um diagnóstico mais vantajoso ao PCR (Asiello; Baeumner, 2011; Zhao *et al.*, 2015).

Diversos designs que integram a tecnologia SDA são utilizados. Por exemplo, Burns *et al.*, (1998) desenvolveu um dispositivo de análise integrada de nanômetros de DNA utilizando a tecnologia SDA. Outro modo é a utilização de primers utilizados em SDA, ancorados em um microchip eletrônico para a amplificação e detecção de múltiplos alvos. Um modelo de sucesso é a metodologia LAMP, a qual pode ser integrada com processos de separação por eletroforese em chips microfluídicos para detecção de ácidos nucleicos, além de outros métodos eficazes através da inserção de papel cromatográfico ao sistema (Asiello; Baeumner, 2011; Zhao *et al.*, 2015).

As Plataformas Capilares, são consideradas vantajosas aos microchips, que podem requerer produtos relativamente complexos e caros para sua fabricação, os tubos capilares podem ser produtos convenientes e baratos para realizar amplificações isotérmicas em pequenos volumes. Um microssistema de capilaridade que integra extração, tecnologia LAMP e detecção fluorescente de DNA de *Mycobacterium tuberculosis* foi proposto por Liu *et al.*, (1998). Diversos sistemas acoplando sistemas microcapilares à tecnologia LAMP foram desenvolvidos na última década, tornando o sistema LAMP uma das principais metodologias utilizadas para diagnóstico PoCT (Asiello; Baeumner, 2011; Zhao *et al.*, 2015; Martín-Ramírez *et al.*, 2022).

2.1.3. Teste LAMP

O teste LAMP foi descrito pela primeira vez em meados dos anos 2000 (Notomi *et al.*, 2000) resultando em um grande avanço e alavancando o desenvolvimento de tecnologias de diagnóstico que visam um resultado rápido e eficiente.

O teste, até os dias atuais, possui alta aplicação na área clínica e sua eficiência é comparável às detecções realizadas em laboratório. A sua validação é realizada por comparação de eficiência e acurácia com outros testes diagnósticos já bem estabelecidos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), dot-blot, western blot e qPCR (*Quantitative PCR*).

Com o desenvolvimento do teste LAMP, extensivas pesquisas com o intuito de facilitar sua aplicação foram realizadas, o que possibilitou a adoção da tecnologia por meio de um kit de detecção para aplicação ao agronegócio, especialmente, para a detecção de fitopatógenos e monitoramento da qualidade da água e de alimentos, além da detecção de resistência, como será possível observar com a revisão a seguir.

A tecnologia LAMP permite a síntese *in vitro* de DNA a partir de uma fita molde utilizando uma quantidade reduzida de instrumentos, que normalmente consiste de quatro primers principais, nomeados de F3 (externo), B3 (externo), *Foward Inner Primer* (FIP) (interno) e *Backward Inner Primer* (BIP) (interno) que reconhecem um total de seis sequências no DNA alvo, sendo que os primers externos atuam na parte não cíclica da reação e os internos na parte cíclica e não cíclica e são os responsáveis pela formação de uma alça de DNA durante a reação, que é a responsável pelo nome “Loop-mediated” (Ribeiro *et al.*, 2021).

Na etapa não cíclica, o primer FIP hibridiza na região F2 da extremidade 3' após abertura da dupla fita pela enzima Bst polimerase, dando início à síntese de uma nova fita, com isso, a fita complementar que estava ligada ao primer FIP é liberada, abrindo espaço para o primer F3, logo se liga na região F3c da extremidade 3'. A fita liberada forma uma alça, pois sua extremidade 5' possui uma região F1c, que rapidamente se liga à sua região complementar F1, presente na mesma fita (Figura 1). Este DNA serve como um molde para a síntese de DNA iniciada pelo Primer BIP na extremidade 5', no qual uma nova fita é formada após desfazer a alça formada pelo primer FIP, abrindo espaço para o primer B3, anteriormente conectado à sua região complementar B3c, se desprender da fita iniciada por PIB e forma outra alça, resultando em uma estrutura semelhante a de um haltere (Gill; Ghaemi, 2008; Ribeiro, 2021).

Já na etapa cíclica, ocorre o alongamento do DNA. Nessa etapa, são utilizados dois primers para reconhecimento de quatro regiões: o primer FIP se liga às regiões F1 e F2c e uma nova fita é sintetizada após acoplamento da Bst polimerase, a qual é amplificada no lado contrário da estrutura de haltere, onde B1 e B1c se ligam. Com isso, duas estruturas são liberadas e reconhecidas pelo primer PIB através das extremidades B2c e B1, formando outra alça. Dessa forma, a cada meio ciclo de LAMP, a sequência é amplificada em valores múltiplos de 3, gerando uma amplificação exponencial após uma hora de reação (Gill; Ghaemi, 2008; Ribeiro, 2021).

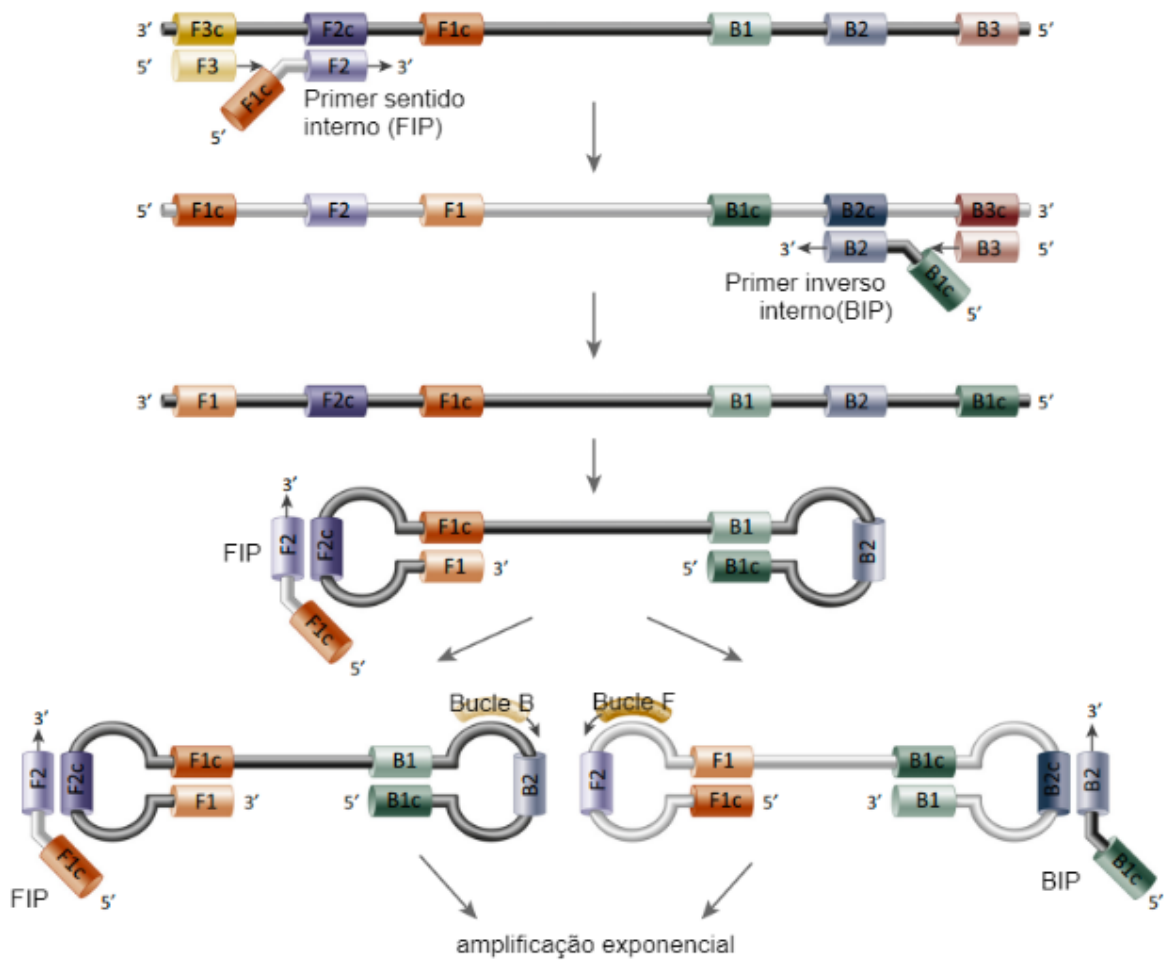


Figura 1. Etapa acíclica da reação LAMP e alças formando estruturas de halteres, oriundas das interações das regiões complementares da fita de DNA. Após uma hora de processo, este alcança uma quantidade exponencial de 10^9 cópias da fita molde. O processo é realizado a uma temperatura constante entre 60 e 65°C (Alhassan *et al.*, 2015).

2.1.4. Necessidades e vantagens do método LAMP

Para garantir uma amplificação eficiente do DNA, Ribeiro (2021) ressaltou oito requisitos essenciais para o desenho de primers para LAMP: (I) é necessário ausência de sequências palindrômicas no DNA alvo, caracterizadas como sequências curtas, repetitivas e com duplo eixo de simetria que podem afetar o acoplamento dos primers. (II) Os primers precisam possuir temperaturas de anelamento não muito baixas, para evitar anelamento em locais indevidos, gerando especificidade do método. (III) Os primers internos não devem ter grande quantidade de bases nitrogenadas AT em suas extremidades. (IV) O conteúdo de bases GC dos primers internos deve ser de cerca de 50 a 60%. (V) A temperatura de fusão deve ser entre 60 e 65°C para sequências ricas em GC. (VI) A temperatura de fusão deve ser entre 55 a 60°C para sequências ricas em AT. (VII) Existem distâncias específicas entre os primers para que estes não formem alças

secundárias. (VIII) e por fim, é necessário que a extremidade 3' seja complementar a primers diferentes dos utilizados, evitando a dimerização.

O método demanda uma temperatura constante de 60 a 65°C e a reação dura entre 45 e 60 minutos (Fakruddin, 2011) e o aquecimento necessário para realizar a reação LAMP pode ser gerado por meio de um aquecedor barato, por exemplo, um aquecedor em bloco ou banho-maria, eliminando a dependência de eletricidade para a realização do diagnóstico. Dessa forma, o LAMP pode ser conduzido em qualquer ambiente.

Sistemas de mudança de fase que geram calor quimicamente, sistemas compactos como um aquecedor de bolso descartável e até sistemas de aquecimento via água quente preservada em garrafa térmica obtiveram resultados satisfatórios de amplificação (Mori *et al.*, 2013).

Além disso, a formulação do teste a seco, assim como já é realizado para reagentes de PCR (kits prontos para uso), conferem vantagens como aumento do tempo de armazenamento e maior estabilidade dos componentes da reação, pois não há mais a necessidade de manter o produto em freezer, o que torna possível produzir diversos produtos comerciais. Cada vez mais, os testes LAMP estão associados a outros dispositivos, o que o permite participar ainda mais do mercado de diagnóstico PoCT (Mori *et al.*, 2013; Rohatensky *et al.*, 2018).

2.1.5. Variações dos teste LAMP

Além da metodologia convencional, o teste LAMP sofreu modificações com que o permitiram fazer detecções mais específicas:

Tabela 1. Testes LAMP com respectivas metodologias e aplicações encontradas na literatura.

| Abreviatura | Nome | Metodologia | Como ocorre a detecção | Aplicações |
|-------------|--|--|---|---|
| AS-LAMP | Alelo-Específica LAMP | Identificação de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs), ou seja, mutações. | Detecção através do desenho de primers com mutações nos quatro primers da tecnologia (BIP, FIB, F3 e B3 (Gill; Amree, 2019; Bodalo <i>et al.</i> , 2012). | Área médica (Genotipagem (Gill; Amree, 2020; Namountougou, 2013); detecção de mutação no β -Globin gene (Gill; Amree, 2019); Setor Agro (detecção de resistência à tebufenozide em <i>Adoxophyes honmai</i> (Uchibori-Asano <i>et al.</i> , 2022); detecção de resistência à pirimetamina em <i>Plasmodium falciparum</i> (Yongkiettrakul <i>et al.</i> , 2020). |
| RFLP LAMP | Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição LAMP | Identificação de SNPs. | Quebra dos amplicons mediada por enzimas de restrição, tornando-os menores e mais facilmente distinguíveis na eletroforese (NCBI, 2017). | Área médica (detecção de HTLV-1/2 (Gomes <i>et al.</i> , 2020); genotipagem (Crescente <i>et al.</i> , 2018)). Setor Agro (detecção de <i>Pythium insidiosum</i> (Htun <i>et al.</i> , 2020)). Indústria alimentícia (Detecção de <i>Salmonella</i> sp. e <i>Shigella</i> spp (Shao <i>et al.</i> , 2011)). |

| Abreviatura | Nome | Metodologia | Como ocorre a detecção | Aplicações |
|-------------|---------------------------------|---|---|--|
| RT-LAMP | Transcrição Reversa LAMP | Detecção de cDNA a partir de um RNA. | A reação é mediada pela enzima transcriptase reversa (Panno <i>et al.</i> , 2020) | <p>Área médica (Detecção do Zika Vírus (Silva <i>et al.</i>, 2020); detecção da Caxumba (Yoshida <i>et al.</i>, 2020) e SARS-CoV-2 (Santos <i>et al.</i>, 2021)).</p> <p>Setor Agro (detecção do vírus da mancha clorótica do tomate (Yilmaz <i>et al.</i>, 2023); vírus anão áspero do milho (MRDV) (Du <i>et al.</i>, 2019; ring spot virus do citros (RSVC) (Kokane <i>et al.</i>, 2021)).</p> <p>Indústria alimentícia (detecção do vírus da Hepatite A em alimentos (Wu <i>et al.</i>, 2023)).</p> |
| mLAMP | LAMP Multiplex | Detecção simultânea de vários patógenos. | Utilização de mais conjuntos de quatro primers em uma mesma reação (Jang <i>et al.</i> , 2021). | <p>Área médica (Detecção de dengue e chikungunya (Kumar <i>et al.</i>, 2022); malária (Sharma <i>et al.</i>, 2022); SARS-CoV-2 (Juscamayta-López <i>et al.</i>, 2021)).</p> <p>Setor Agro (detecção de <i>Dickeya fangzhongdai</i> (DeLude <i>et al.</i>, 2022); detecção de <i>Plasmodium</i> spp; <i>Plasmodium falciparum</i> e <i>Plasmodium vivax</i> (Jang <i>et al.</i>, 2021); detecção de <i>Oculimacula acufiformis</i> e <i>O. yallundae</i> (King <i>et al.</i>, 2021)).</p> <p>Indústria alimentar (detecção de <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Salmonella</i> sp e <i>Shigella</i> sp (Xu <i>et al.</i>, 2019)).</p> |
| Q-LAMP | LAMP Quantitativo em Tempo Real | Detecção e quantificação em tempo real de ácidos nucleicos. | Mede a turbidez da amostra (turbidímetro em tempo real) (Mori <i>et al.</i> , 2004). | <p>Área médica (detecção de SARS-CoV-2 (Alvarez <i>et al.</i>, 2021; detecção de <i>Toxoplasma gondii</i> (Cao <i>et al.</i>, 2022); Infecção congênita por citomegalovírus (Park <i>et al.</i>, 2023)).</p> <p>Setor Agro (Detecção de cancro (Wang; Zhang, 2019); detecção de <i>Botryosphaeria dothidea</i> (Wang; Zhang, 2019); detecção de <i>Ustilaginoidea virens</i> (Zhang <i>et al.</i>, 2023)).</p> <p>Setor Agro (detecção de <i>Dickeya fangzhongdai</i> (DeLude <i>et al.</i>, 2022); detecção de <i>Plasmodium</i> spp; <i>Plasmodium falciparum</i> e <i>Plasmodium vivax</i> (Jang <i>et al.</i>, 2021); detecção de <i>Oculimacula acufiformis</i> e <i>O. yallundae</i> (King <i>et al.</i>, 2021)).</p> |
| eLAMP | LAMP Elétrica | Simula de forma eletrônica a amplificação LAMP. | Simula de forma eletrônica a amplificação LAMP. | <p>Área médica (detecção de <i>Schistosoma mansoni</i> (Gandasegui <i>et al.</i>, 2018); detecção de esquistossomose em fezes (Gomes <i>et al.</i>, 2022)).</p> <p>Setor Agro (detecção à campo de <i>Bulinus truncatus</i> (Blin <i>et al.</i>, 2023); detecção de contaminação fecal em água (Khodaparast <i>et al.</i>, 2022)).</p> <p>Indústria alimentar (detecção de <i>Staphylococcus</i> sp (Salinas; Little, 2012)).</p> |
| Id-LAMP | Disco LAMP | Detecção em tempo real de amplicons. | Incorporação de microrreatores a discos compactos e leitura óptica quantitativa do resultado (Santiago <i>et al.</i> , 2016). | <p>Indústria alimentar (detecção de <i>Salmonella</i> spp (Santiago-Felipe <i>et al.</i>, 2016)).</p> |

(Elaborada pela Autora)

2.1.6. O mercado do teste LAMP

Em 2011, um kit reagente LAMP de detecção do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (TB) foi criado no Japão (kit de detecção Loopamp MTBC, ou TB-LAMP) pela fabricante Eiken Chemical, o qual apresentou sensibilidade de 80% (com intervalo de confiabilidade de 78-83%) e uma especificidade de 96% (95-97%) segundo Kouzaki *et al.*, 2015. O reagente foi uma revolução no mercado de kits após sua utilização em conjunto com o kit nomeado Loopamp PURE DNA extraction kit, também da fabricante Eiken Chemical, permitindo que a descontaminação de NALC (*N-acetyl-L-Cysteine*)-NaOH não fosse mais necessária. Após essa fase, o kit passou por adaptações que facilitaram o seu armazenamento em temperatura ambiente, tornando o kit PURE-TB-LAMP um diagnóstico simples, efetivo e rápido para diagnóstico da TB, com sensibilidade de 55% em relação a amostras com esfregaço negativo e cultura positiva, sensibilidade geral de 70,67% e especificidade de 98,32%, valores semelhantes aos obtidos por protocolos de PCR. (Mori *et al.*, 2013; Kouzaki *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015).

Desde então, a metodologia LAMP possibilita o diagnóstico de diversas doenças humanas. Os estudos da aplicação do teste para diagnóstico do HIV (Vírus da imunodeficiência humana), por exemplo, estão em estágio avançado e já existem produtos comerciais disponíveis, inclusive de empresas brasileiras como a WAMA e ChemBio. Além da detecção de importantes patógenos e doenças humanas, como *Mycobacterium tuberculosis* (Kouzaki *et al.*, 2015), malária (Mori *et al.*, 2013), HIV (Mori *et al.*, 2013) e tripanossomíase africana (Matovu *et al.*, 2020), além disso há diversas doenças tropicais negligenciadas reconhecidas pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que estão sendo diagnosticadas pela metodologia LAMP, dentre elas estão: dengue (Parida *et al.*, 2005), raiva (Boldbaatar *et al.*, 2009), úlcera Buruli (Ablordey *et al.*, 2012), leprose (Mukai, 2006), doença de Chagas (Thekisoie *et al.*, 2007), leishmaniose (Takagi *et al.*, 2009), cisticercose (Nkouawa *et al.*, 2009), entre diversas outras doenças humanas (Mori *et al.*, 2013).

Devido a necessidade de instalações sofisticadas e técnicos de laboratórios bem treinados na maioria das áreas onde tais doenças são endêmicas, soluções simples e robustas como o teste LAMP estão em alta demanda. Além disso, muitas destas doenças são transmitidas por vetores, o que fez com que a metodologia também se voltasse para a detecção de patógenos vetores e animais vetores (Mori *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2015).

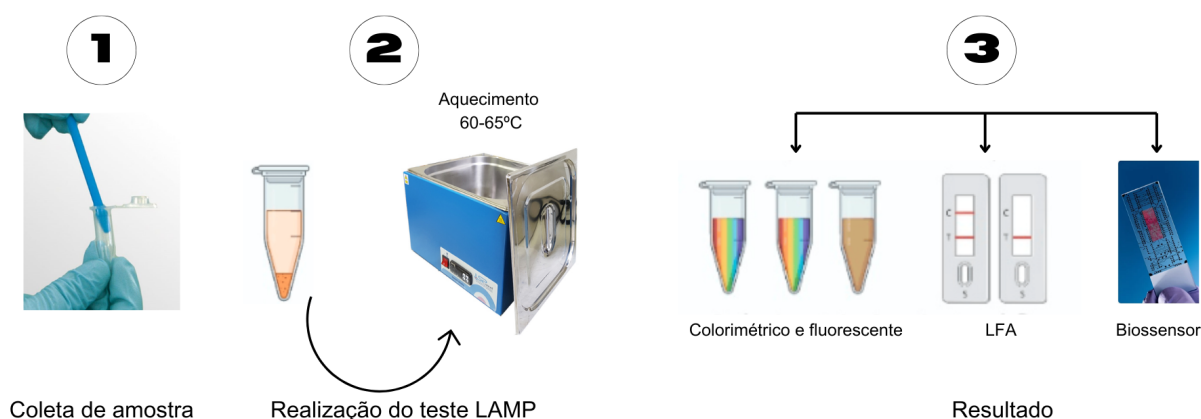


Figura 2. Etapas do processo de detecção do teste LAMP. Após a coleta de amostra (1), essa amostra deve ser macerada e um mix com as enzimas e primers atuantes no processo deve ser adicionado ao tubo. O tubo passa pelo processo de aquecimento a uma temperatura constante (60-65°C) (3) para que a reação ocorra. A detecção do produto amplificado pode ser visualizado (3) de várias maneiras, dentre elas, a integração de partículas coloridas ou fluorescentes acopladas ao molde de amplificação, que permite a visualização do produto amplificado no próprio tubo de reação, ou acoplamento de partículas que gerem uma interação que pode ser identificada através de um teste de fluxo lateral (LFA) ou através da aplicação em um chip sensor, que interpreta a mostra e a transforma em mensurável (Augustine *et al.*, 2020; AZO Life Sciences, 2020; Adaptado de Econolab, 2023).

2.1.7. Aplicações do teste LAMP para o setor Agro

No setor Agro, os produtos com a tecnologia LAMP encontram mercado principalmente na detecção de fitopatógenos e no monitoramento da qualidade da água e de alimentos. Alguns produtos LAMP vêm sendo explorados para auxiliar nesse monitoramento, por exemplo, a detecção de *Cryptosporidium* em amostras de água (Koloren *et al.*, 2013); e *Giardia* (Plutzer *et al.*, 2010). Além da detecção de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* (Lee *et al.*, 2019). A metodologia também vem sendo desenvolvida para detectar doenças infecciosas de animais de produção, como a Doença de Newcastle (DN), uma doença que afeta aves de produção, nesse caso, um estudo compara LAMP à um método de PCR e é afirmado que a tecnologia detecta LAMP o vírus e ainda é mais simples e barata quando comparada ao PCR (Bello *et al.*, 2018). Além disso, a peste suína também foi detectada via qLAMP e a detecção foi equivalente ao método qPCR (Wang *et al.*, 2020). A detecção de febre aftosa em bovinos também foi possível pela metodologia RT-LAMP e o ensaio validado à campo, apresentou especificidade maior que 99% e sensibilidade de 79% (Bath *et al.*, 2020).

Metodologias para detecção de patógenos de plantas também vem sendo utilizadas no monitoramento de doenças, a detecção do vírus da folha amarela do tomateiro (TYLCV) em 2003 (Fukuta *et al.*, 2003) foi o estudo que abriu as portas para a aplicação da metodologia nessa área. De maneira geral, a tecnologia é mais utilizada para a detecção de vírus e fungos fitopatogênicos, utilizando a tecnologia RT-LAMP, foi possível detectar o *Abaca bunchy top virus* (ABTV) (Galvez *et al.*, 2020), Vírus da mancha clorótica da maçã (ACLSV) (Peng *et al.*, 2017), Vírus da corrosão do caule da maçã (ASPV) (Lu *et al.*, 2018), Vírus do mosaico de culturas como bananeira (CMV) (Zhang *et al.*, 2016), cevada (Zhao *et al.*, 2010), citros (Anthony Johnson *et al.*, 2014), pepino (Li *et al.*, 2013), figo (Ishikawa *et al.*, 2015), trigo (Fukuta *et al.*, 2013), mamão (Shen *et al.*, 2014) entre diversos outros de várias outras culturas como pêssego, pimenta, ameixa, batata, arroz, sorgo, abóbora, morango, tabaco, nabo, mandioca, melancia, inhame, etc (Panno *et al.*, 2020).

Por outro lado, o monitoramento da resistência de fungicidas também é alvo de tecnologia LAMP, com exemplo da detecção de resistência a fungicidas SDHI (Fan *et al.*, 2018) e DMI (Chen *et al.*, 2019), assim como a detecção de bactérias como *Pseudomonas* sp e *Xanthomonas* sp (Neves *et al.*, 2022).

2.2. Testes de Fluxo Lateral

Os testes de fluxo lateral (LFAs, do inglês *Lateral Flow Assays*), são tiras fabricadas de um material carreador com reagentes a seco que são ativados através do contato com uma amostra fluida e já são amplamente utilizados para diagnosticar gravidez, falha interna de órgãos, infecção ou contaminação com patógenos específicos (Sajid *et al.*, 2015), e mais recentemente, se popularizou pela presença nas prateleiras para diagnóstico de Covid-19.

Os testes de fluxo lateral são projetados para uso único e *point of care/need*, fora de laboratórios. A simples confirmação de presença ou ausência da molécula/patógeno avaliado já é amplamente comercializada e possui infinitas aplicações, a mais famosa é o teste rápido de gravidez, nesse caso, os produtos já conseguem revelar o resultado a partir de um minuto do contato entre a solução e a tira teste, outros já podem demorar de 10 a 20 minutos. Os testes possuem alta sensibilidade e especificidade que na maioria das vezes são garantidas por meio da combinação entre cromatografia, uso de anticorpos específicos para a amostra ou para sequências de DNA/RNA e a rotulação da amostra ou reconhecimento do elemento (Verheijen, 2002).

Os testes de imunoensaio de fluxo lateral (LFIA, do inglês *Lateral Flow (Immuno)Assays*) são muito semelhantes aos imunoenaios enzimáticos, entretanto, não os substitui. Nos primeiros LFIA relatados como semelhantes aos imunoenaios enzimáticos, o anticorpo foi imobilizado em uma tira de papel cromatográfico permitindo que o reconhecimento fosse feito por cromatografia além do sistema de reconhecimento imunológico. Além disso, os primeiros testes utilizavam enzimas já usadas nos imunoenaios enzimáticos, mas rapidamente foram substituídos por partículas. Atualmente, quando novos métodos de LFIA são apresentados, uma forma de avaliar o desempenho do teste é compará-lo com os imunoenaios enzimáticos (Verheijen, 2002; Sajid *et al.*, 2015).

2.2.1. Princípios dos testes de fluxo lateral

Todos os reagentes do teste são fixados ou imobilizados em uma membrana porosa, geralmente de nitrocelulose, e colocados em contato com a amostra após adição de um tampão. Na literatura, tal teste possui diversos nomes: *Strip test*, *One-Step strip test*, *Lateral Flow (LF)*, *On-Site test* ou *Near-Patient test (NPT)* (Verheijen, 2002).

Imunoenaios são sistemas que utilizam anticorpos como reagentes, os quais são atraídos por alguma partícula em específico, a depender do teste. O teste se dá por meio da passagem do tampão, com a amostra a ser diagnosticada, por toda a tira, onde a solução (tampão + amostra) entra em contato com a tira através de uma membrana nomeada *Sample pad* (SP), normalmente feita de celulose ou sílica reticulada. Em contato com o *Sample pad* e com a tira em si, há uma terceira membrana, nomeada *Conjugate pad* (CP), feita de sílica reticulada. É nesta membrana onde moléculas de reconhecimento da amostra são fixadas e secas. Quando em contato com a solução, essas moléculas irão interagir com as da amostra e haverá ligações, ou não, entre as moléculas do *Conjugate pad* e as da solução. Tal processo continuará ocorrendo durante a passagem da solução pela tira, que se dá por capilaridade e outras condições físicas de absorção, além de

uma absorção extra por meio de uma quarta membrana localizada do lado oposto da tira, nomeada *Absorbent pad* (AP), normalmente feita de filtros de celulose (figura 3).

Também existe outra alternativa: as moléculas de reconhecimento são secas em um tubo de reação e a tira contendo a amostra a ser analisada é inserida no tubo (Verheijen, 2002; Wong; Tse, 2008; Mak *et al.*, 2016). As moléculas de reconhecimento são acopladas a nanopartículas coloridas ou fluorescentes de 15-800 nm, garantindo que o fluxo na tira não seja atrapalhado. Essas nanopartículas normalmente são feitas de ouro coloidal ou látex, em alguns casos também podem ser feitas de selênio, carbono ou lipossomos (Verheijen, 2002).

Pelo menos duas linhas de detecção são fixadas na tira: uma linha teste e uma linha controle. Na linha teste, a amostra rotulada e seu repórter deverão ser reconhecidos necessariamente. Já uma resposta na linha controle, indica que o fluxo na tira ocorreu apropriadamente e houve ligação entre moléculas da solução com as do *Conjugate pad* e com o repórter (figura 4). Mais linhas podem ser fixadas tornando o teste multi diagnóstico ou com a finalidade de realizar uma avaliação semiquantitativa da resposta (Verheijen, 2002; Wong; Tse, 2008).

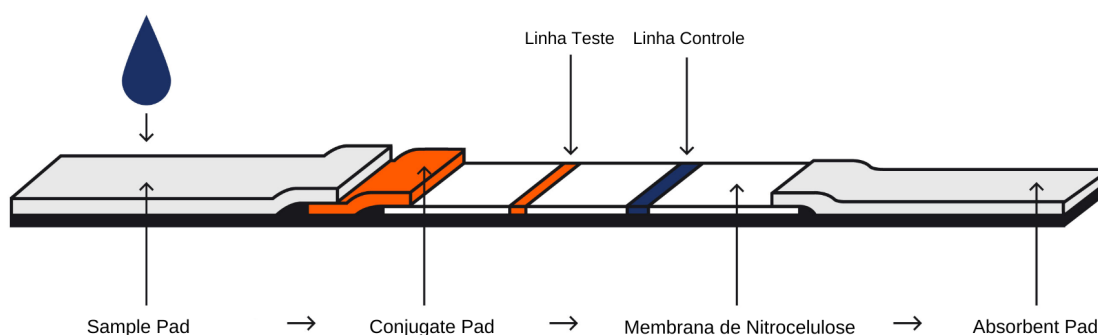


Figura 3. Teste de fluxo lateral e seus componentes: *Sample Pad*, *Conjugate Pad*, Membrana e *Absorbent Pad* (Adaptado de Cytiva Life Science, 2022).

2.2.2. Tipos de teste de fluxo lateral

Quando o teste utiliza exclusivamente anticorpos para o reconhecimento de amostras, os testes são chamados de *Lateral flow immunoassays* (LFIA). Já para uma combinação entre a interação antígeno-anticorpo e detecção de um amplicon de fita dupla (ds-amplicon), o teste é nomeado *Nucleic acid lateral flow immunoassay* (NALFIA). Além disso, a hibridação específica de ácidos nucleicos com sondas complementares, também é outra possibilidade de teste: *Nucleic acid lateral flow assay* (NALF) (Verheijen, 2002; Koczula; Gallotta, 2016).

2.2.2.1. Testes LFIA

Os testes LFIA são designados para confirmar a presença ou ausência de um composto e podem apresentar diversos formatos. Para o caso de amostra ser de baixa massa molecular e possuir apenas um epítipo, apenas um formato é válido: o competitivo. O formato competitivo possui dois layouts, considerando que a amostra que está sob análise pode ser o composto em si ou um derivado do composto. No primeiro layout, o anticorpo é pulverizado na linha teste, uma mistura de amostra e conjugado (anticorpo marcado com uma nanopartícula) é aplicada no *Conjugate pad* e competem por sítios de ligação com o anticorpo na linha teste. No segundo layout, o conjugado é pulverizado na linha teste e uma mistura do anticorpo marcado e a amostra são aplicadas no *Conjugate pad*, permitindo que a amostra tenha uma vantagem inicial para ligação ao anticorpo (Koczula; Gallotta, 2016; Khlebtsov *et al.*, 2019).

Para amostras com mais de um epítipo, o formato sanduíche é o mais aplicável. Neste formato, a linha teste é preparada utilizando um anticorpo específico para amostra e o *Conjugate pad* contém um segundo anticorpo anti-antígeno marcado. Nesse caso, a amostra se ligará, durante a passagem pela tira, ao anticorpo anti-antígeno e o epítipo livre se ligará ao anticorpo imobilizado na linha teste (figura 4). Nessa situação, a resposta é diretamente proporcional à quantidade de moléculas (antígenos) da amostra (Koczula; Gallotta, 2016; Verheijen, 2002).

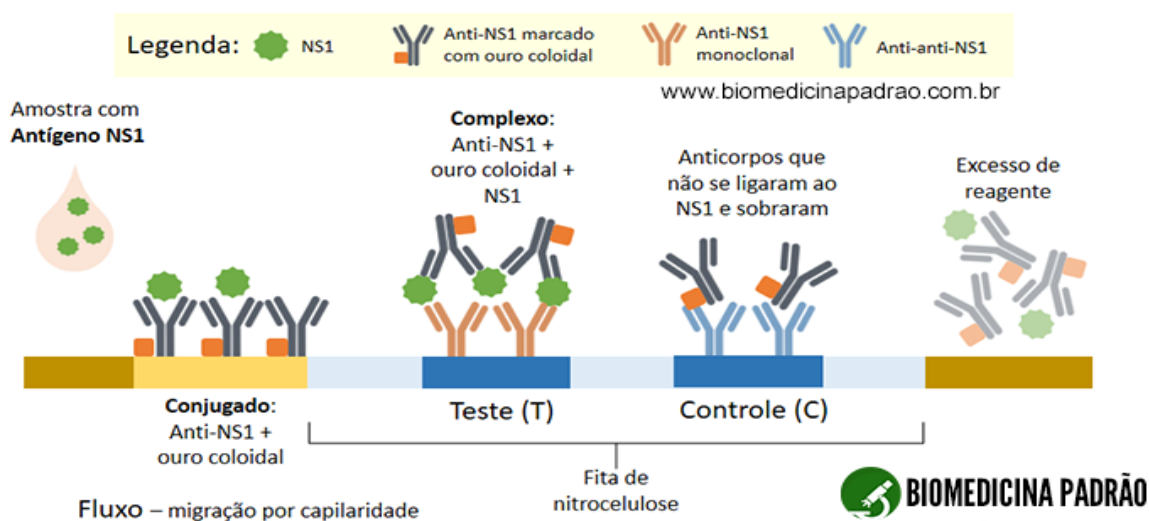


Figura 4. Mecanismo de reconhecimento anticorpo-antígeno da metodologia LFIA, formato sanduíche, utilizando nanopartículas de ouro coloidal (Adaptado de Câmara, 2009).

2.2.2.2. Testes NALFIA e NALF

Os testes NALFIA e NALF são normalmente designados para identificar a presença ou ausência de patógenos em alimentos e no meio ambiente. No teste NALFIA, a amostra é uma sequência de ácidos nucleicos de cadeia dupla amplificada, específica do organismo em análise, e é obtida por meio do isolamento com primers com dois diferentes *tags*. (Van Dijk *et al.*, 2023). O reconhecimento da amostra é feito através da ligação de um anticorpo específico para a *tag*. Um layout

típico deste teste é a detecção de bactérias patogênicas. O ácido nucleico é normalmente amplificado via PCR. O ds-amplicon é obtido e é formado por uma fita marcada com biotina e outra fita marcada com isotiocianato de fluoresceína ou digoxigenina, por exemplo (Van Dijk *et al.*, 2023). Uma solução de anticorpos anti-tag é criada e pulverizada na linha teste. A *tag* biotina se ligará ao composto marcado com nanopartículas de avidina e a outra *tag* (que pode ser feita de isotiocianato ou digoxigenina), se ligará ao anticorpo anti-tag, resultando em um sinal colorido. Tal resposta é diretamente proporcional à quantidade de amostra (Verheijen, 2002; Koczula; Gallotta, 2016; Van Dijk *et al.*, 2023).

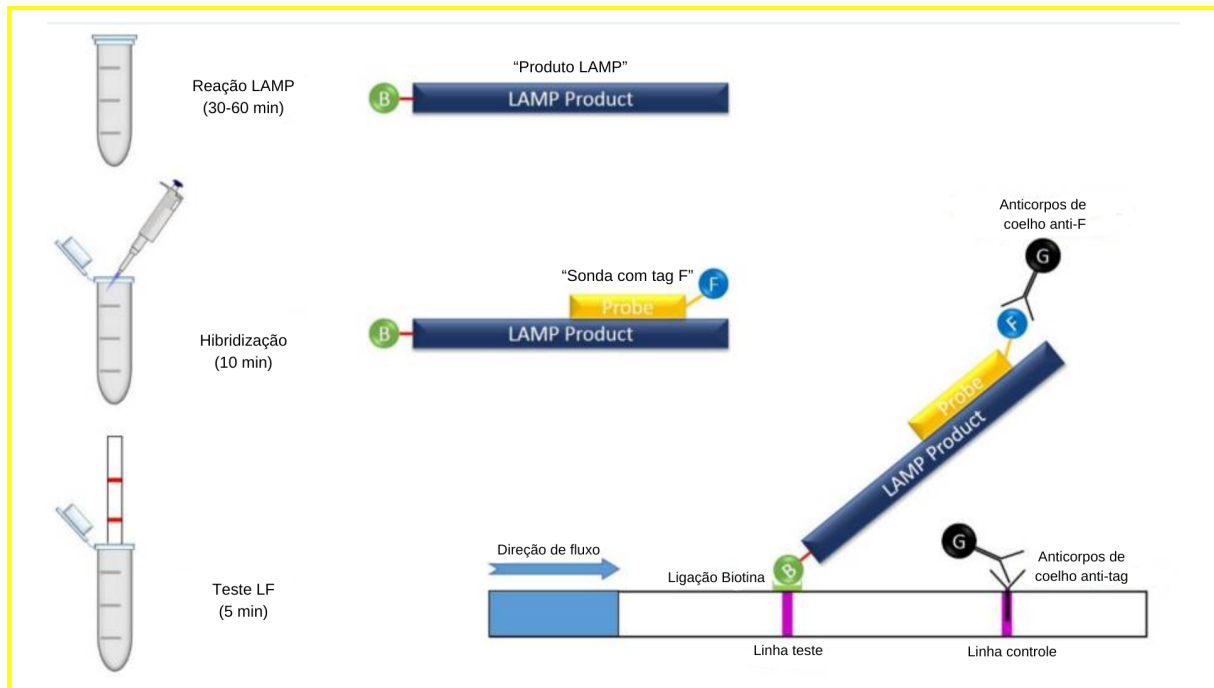


Figura 5. Mecanismo de reconhecimento de ácidos nucleicos do teste NALFIA, com reconhecimento de um produto amplificado via LAMP. A reação LAMP nesse caso, é realizada utilizando uma tag de biotina (B) acoplada ao primer FIP e após 30 a 60 minutos de incubação à temperatura constante (60-65°C), se adiciona à reação uma sonda marcada com uma tag de isotiocianato de fluoresceína (F) e a amostra é incubada por mais 10 minutos ainda à temperatura constante. Por fim, é adicionado à reação um buffer de detecção que contém anticorpos de coelho anti-tag de isotiocianato de fluoresceína (G) acoplados a nanopartículas de ouro coloidal. A detecção ocorre após a amostra percorrer a membrana do teste e a tag B se ligar à linha teste ao mesmo tempo que a tag F se ligar aos anticorpos anti-tag (G) (Adaptado de Panno *et al.*, 2020)

Já para o teste NALF, vários formatos podem ser aplicados: No primeiro, há uma sonda repórter, (marcada com nanopartículas) e uma sonda de captura (marcada com biotina). No segundo, a sonda repórter é marcada com nanopartículas e a sonda de captura é marcada com albumina. E o terceiro, a sonda repórter é marcada com nanopartículas e a sonda de captura é imobilizada na linha teste por adsorção passiva. Nos três casos, o amplicon hibridiza com ambas as sondas e a resposta é diretamente proporcional à quantidade de amostra (Verheijen, 2002; Koczula; Gallotta, 2016; Akineden *et al.*, 2020).

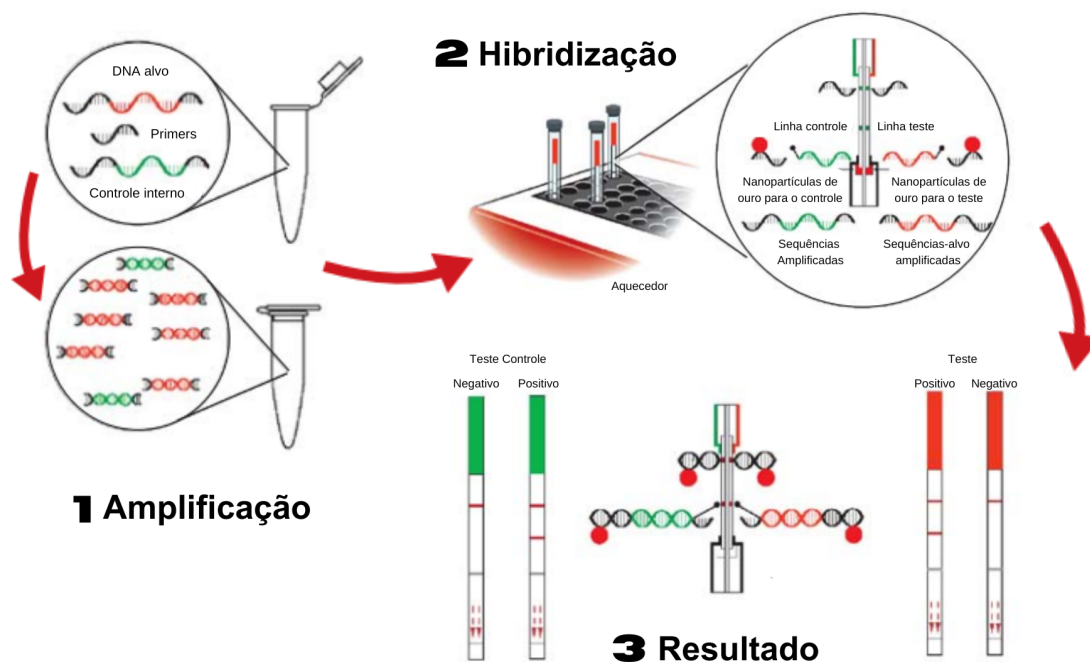


Figura 6. Mecanismo de reconhecimento de ácidos nucleicos do teste NALF. Após a amplificação, o produto da amplificação (ou seja, o ss-amplicon, em verde e vermelho) é aplicado na tira e hibridiza com sondas, as quais estão ligadas a nanopartículas (nesse caso, ouro coloidal). Após aproximadamente 10 minutos, os amplicons são detectados através da ligação de um anticorpo específico para a sonda de captura (Adaptado de Busher, 2011).

2.2.3. Vantagens e Desvantagens dos testes de Fluxo Lateral

Algumas características químico-físicas de cada tipo de teste permitem uma maior ou menor sensibilidade, o que permite classificá-los em relação a serem mais vantajosos ou menos vantajosos entre si e entre outros métodos de diagnóstico.

A sensibilidade dos testes LFIA é extremamente dependente da afinidade entre o antígeno e o anticorpo. Anticorpos específicos (primários) podem ser rotulados para fornecer uma resposta, entretanto, grandes quantidades de materiais, muitas vezes caros, são necessários. Além disso, anticorpos primários podem ter sua afinidade reduzida após conjugação com o marcador, diminuindo a sensibilidade do teste. Para a detecção de ácidos nucleicos, a escolha de primers específicos durante o processo de amplificação é indispensável (Verheijen, 2002).

No teste NALFIA, o reconhecimento é realizado via interação do anticorpo com a tag da amostra e via reação biotina-avidina. Já o teste NALF, há a necessidade de realizar a hibridação das sondas nos amplicons, o que deve ter feito antes do processo cromatográfico e leva mais tempo do que o processo de reconhecimento no teste NALFIA (Verheijen, 2002), tornando o mesmo mais vantajoso do que o teste NALF no quesito velocidade de resposta.

Uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*) do teste LFIA, elaborada por Posthuma-Trumpie *et al.*, (2008), constatou que como "forças" (*Strengths*), o teste possui um formato versátil, tempo de prateleira prolongado sem a necessidade de refrigeração, possibilidade de resultado

qualitativo e semiquantitativo, é rápido, de baixo custo e de pouco volume de amostra (Mirica *et al.*, 2022).

Em contraste, apresenta algumas “fraquezas” (*Weaknesses*) como: A resposta não está relacionada à concentração da amostra no formato competitivo; pode ocorrer obstrução dos poros da matriz dos componentes; há a necessidade de pré-tratamento da amostra quando a mesma não é um fluido, entre outros. O teste ainda apresenta diversas “oportunidades” (*Opportunities*): Há possibilidade de novas aplicações para *point of care/need*(I); há possibilidade de automatizar a produção para melhorar sua reprodutibilidade (II) e pode estar à frente de outras tecnologias devido ao seu rápido desenvolvimento (III) (Khalifian *et al.*, 2015; Mirica *et al.*, 2022).

Algumas “ameaças” (*Threats*) listadas foram: Existência da cromatografia-gasosa de espectrometria de massa (GC-MS) e a cromatografia líquida de espectrometria de massa (LC-MS) serem realizadas de forma automatizada (I); existir a possibilidade de reativação de apoenzimas do sistema imunológico (II) e existirem outras tecnologias concorrentes como Imunossensores, Imunoensaios de micropartículas (Luminex® e outras marcas semelhantes) e Tecnologia *Lab-on-a-chip* (III). Além disso, também há uma grande concentração de patentes de testes de fluxo lateral concentrados sob uma empresa comercial, a *Iverness Medical Innovations* (Khalifian *et al.*, 2015; Mirica *et al.*, 2022).

2.2.4. Aplicação dos testes de Fluxo Lateral para Setor Agro

Já para o setor Agro, o teste LAMP encontra um mercado relativamente novo. Apesar de existirem estudos sendo realizados desde meados dos anos 2000, a pesquisa científica envolvendo a tecnologia para aplicação na detecção de fitopatógenos, doenças de suínos, aves e bovinos, além de aplicação para o meio ambiente com detecção de substâncias e microorganismos na água e em alimentos.

Assim como a metodologia LAMP, os testes de fluxo lateral vem sendo muito explorados para aplicação no setor Agro, e atualmente muitos estudos têm avaliado sua capacidade para a detecção de pesticidas. Esse monitoramento é importante, pois existem regulamentações que determinam concentrações máximas permitidas de resíduos de pesticidas e os LF são uma tecnologia promissora (Jara *et al.*, 2022), com isso, a detecção de pesticidas profenofós (PFF) por meio da tecnologia baseada em prata coloidal foi relatada como sendo conveniente, econômica, rápida e específica para a detecção desse pesticida em vegetais (Wu *et al.*, 2022). Outros estudos relataram detecção rápida e sensível, acoplados a sensores, de pesticidas triazofós utilizando LF imunocromatográfico (Ge *et al.*, 2020), detecção de pesticidas piretróides (Costa *et al.*, 2020), detecção de organofosforados (Du *et al.*, 2012) e também, detecção baseada a olho nú do inseticida Imidacloprid (Fang *et al.*, 2015) e de pesticidas carbofuran e triazofós de forma simultânea (Guo *et al.*, 2009).

Em 2017, Panferov e colaboradores desenvolveram um teste de fluxo lateral para detecção do vírus do enrolamento da folha da batata (PLRV) utilizando nanopartículas de ouro como marcadores e realce de prata e obteve a detecção de vírus em amostras mais diluídas em comparação com o método convencional, alcançando uma sensibilidade 15 vezes maior do que outros trabalhos que também utilizaram esse realce (Panferov *et al.*, 2018).

A detecção de *Ralstonia solanacearum*, responsável pela murcha bacteriana, também foi eficiente e sensível ao se utilizar isotiocianato de fluoresceína (FITC) (Ma *et al.*, 2018), assim como a detecção de outras bactérias como *Escherichia coli* (Song *et al.*, 2016), *Acidovorax citrulli* (Zeng *et al.*, 2018), *Xanthomonas arboricola* (Lopez-Soriano *et al.*, 2017), *Clavibacter michiganensis* (Brady, 2005), *Dickeya* sp. (Safenkova *et al.*, 2017), *Avibacterium paragallinarum* (Huo *et al.*, 2021), além de fungos como *Alternaria brassicae* (Wakeham *et al.*, 2016), *Alternaria panax*, em um sistema que acoplou PCR nested de tudo único, com teste de fluxo lateral e um biossensor (Wei *et al.*, 2018), *Phytophthora capsici*, acoplado de uma amplificação RPA (Yu *et al.*, 2019), *Phytophthora infestans*, também acoplado de uma amplificação RPA (LU *et al.*, 2020), e detecção de vírus como o causador da peste suína africana (PSAV) (Sastre *et al.*, 2016), vírus da faixa venosa do morangueiro (SVBV), também acoplado a uma amplificação RPA (Zou *et al.*, 2022), vírus do mosaico das brácteas da bananeira (BBrMV), vírus da síndrome da mancha branca (WSSV) (Kulabhusan *et al.*, 2017), entre diversos outros.

Estudos científicos em torno do desenvolvimento de testes de fluxo lateral vem sendo publicados em massa desde a pandemia do COVID-19, e testes destinados à detecção na área agrícola e animal datam de meados dos anos 2000 até a atualidade, indicando que esse tipo de teste vem recebendo atenção para esse setor a muito tempo e que provavelmente, a pandemia apenas abriu portas para maior diversidade e qualidade de estudos.

2.3. Biossensores

O desenvolvimentos de sensores para detecção POC de patógenos é uma alternativa para garantir o acrônimo “ASSURED”: *Affordable*, *Specific* (com baixa quantidade de falsos positivos), *Sensitive* (com baixa quantidade de falsos negativos), *Use-friendly*, *Rapid*, *Equipment-free* e *Deliverable* (Sharafeldin; Davis, 2021). Assim, os biossensores são um tipo de sensor, os quais serão abordados nesta revisão, uma vez que estes, especificamente, possuem aplicação PoCT.

Biossensores são dispositivos analíticos que utilizam material biológico ativo para detectar moléculas, íons, ácidos nucleicos, enzimas, células, entre outros. Um biossensor funciona basicamente através do bio-reconhecimento desse material e transdução em sinal elétrico ou óptico e quantificável (Alcântara, 2004). Dessa forma, sua sensibilidade e especificidade são totalmente dependentes do componente biológico utilizado e do transdutor de sinal, pois além de ser necessário ocorrer a interação entre biomolécula e a amostra a ser analisada, o transdutor precisa converter a interação com alta eficiência em um sinal para detecção (Schalkhammer, 2002).

Segundo Garrote (2022), os biossensores são compostos basicamente por três elementos: Um receptor, o qual possui moléculas que interagem especificamente com as moléculas da amostra (analito); um transdutor, que contém uma superfície com moléculas receptoras e converte o sinal biológico ou químico, oriundo da interação das moléculas, em um sinal elétrico; e a saída, que traduz o sinal elétrico em quantificável. Ainda de acordo com Garrote, essa quantificação do

analito pode ser feita diretamente ou indiretamente, ou seja, sem marcadores (label-free) ou com marcadores (label-based), no qual o segundo apresenta algumas desvantagens pois exige maior quantidade de reagentes e etapas para obtenção do resultado, resultando em um preço mais elevado e maior consumo de tempo. Com isso, os biossensores normalmente são classificados quanto ao tipo de transdutor do sinal e podem identificar o sinal de forma eletroquímica, óptica, via piezoelectricidade ou ondas sonoras (Garrote, 2022)

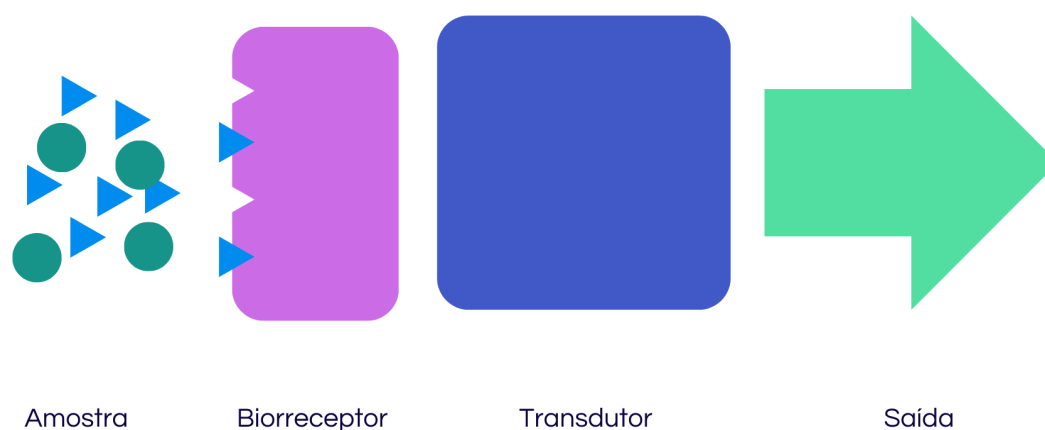


Figura 7. Modelo de arquitetura de um biossensor. O biorreceptor reconhece produtos oriundos de interações moleculares ou realiza uma interação com o próprio analito alvo, essas interações são processadas por um transdutor, que pode ser de diversos tipos. O tipo de transdutor é escolhido de forma a processar uma determinada interação do biorreceptor. O transdutor é responsável por processar e transformar a interação em um sinal quantificável que pode ser facilmente lido e interpretado pelo usuário (Figura elaborada pela autora).

2.3.1. Tipos de Sensores

2.3.1.1. Sensores Voltamétricos

Estes sensores monitoram a mudança de corrente em função da mudança de potencial elétrico. São aqueles baseados em voltametria cíclica (VC), voltametria de pulso diferencial (VPD) e voltametria de onda quadrada (SQO), os quais as respectivas siglas são originárias do termo em inglês. Por exemplo, alguns destes sensores possuem como sistema de transdução de sinal, amperímetros ou eletrodos enzimáticos (Sharafeldin; Davis, 2021).

Nesse caso, combinam especificidade e seletividade das enzimas com a sensibilidade de métodos de detecção eletroquímica e componente biológico é escolhido de forma que a reação produza uma espécie eletroativa, que pode ser oxidada ou reduzida e, dessa forma, ser possível quantificar eletroquimicamente. Esses sensores possuem aplicação para reações de catálise de enzimas (Verheijen, 2002). Entretanto, aparentemente estes sensores apresentam uma desvantagem significativa, de acordo com os autores Sharafeldin e Davis (2021), pois são necessários processos de lavagem e incubação que aumentam o tempo de ensaio e sua complexidade.

Ainda segundo Sharafeldin e Davis (2021), os sensores nomeados de *Field-Affect Transistors* (FET), podem ser considerados um subtipo de sensores

voltamétricos, estes utilizam um dreno como plataforma sensorial e detectam perturbações na interface semicondutora dos eletrodos, originando uma mudança de condutância do canal do biossensor. Os modelos FET são altamente adaptáveis ao formato PoCT por sua escalabilidade e ampla gama de estratégias de modificação da superfície do eletrodo.

2.3.1.2. Sensores de Impedância

Antes de compreender o funcionamento destes sensores, é fundamental conhecer o significado de Impedância, que em curtas palavras significa a capacidade de resistir a uma determinada corrente elétrica (Noronha, 2022).

Segundo Sharafeldin e Davis (2021), esses sensores detectam uma diferença de potencial de baixa magnitude através de ondulações de corrente alternadas sobrepostas e um potencial de corrente contínua constante. Alguns destes, podem ser operados em modos Faradaicos ou não, ao longo de uma faixa de frequência que varia de 100 kHz a 0,1 Hz. Tais sensores são aplicados na detecção de bactérias (Cebula *et al.*, 2019), vírus (Baek *et al.*, 2020) e material genético (Nazari-Vanani *et al.*, 2020).

2.3.1.3. Sensores Potenciométricos

Esses biossensores envolvem eletrodos não Faradaicos, eles operam a partir de um acúmulo de cargas na superfície do eletrodo, assim, quando ocorre a distribuição de cargas, é possível quantificar o potencial através de uma equação simples, a equação de Nernst e possuem aplicação para detectar enzimas, íons, gases e analitos imunológicos (Schalkhammer, 2002). Os transdutores presentes neste tipo de biossensor trabalham com o potencial na interface eletrodo-solução, oriunda da atividade da reação enzimática que ocorre no meio e esse potencial é medido em relação a um eletrodo de referência, geralmente de Ag ou AgCl em solução de KCl com uma concentração definida. Dentre os sensores potenciométricos mais utilizados, os que possuem eletrodo de vidro sensível a H⁺ são os mais explorados, nos quais ocorre uma adsorção seletiva desse íon, provocando uma separação de cargas e conseqüentemente, uma diferença de potencial detectável (Alcântara, 2004).

2.3.1.4. Sensores Condutimétricos

Nesse caso, a detecção se dá através da mudança de condutividade em relação à concentração da amostra em análise. Os principais transdutores utilizados para essa situação são sistemas de eletrodos interdigitados que detectam o consumo ou produção de espécies iônicas. Estes biossensores possuem alta simplicidade de operação e baixo custo, porém, apresentam baixa sensibilidade quando comparados a outros modelos e a condutividade do sistema depende de uma temperatura ideal (Schalkhammer, 2002; Alcântara, 2004).

2.3.1.5. Sensores de Canais Iônicos

São empregados em outros tipos de biossensores, ou seja, podem ser integrados com outros tipos de detecção e atuar em conjunto. Esse tipo de biossensor possui bastante utilidade para a indústria farmacêutica, uma vez que, de

acordo com Shalkhammer (2002), imita as funções de uma membrana biológica. Este sensor é baseado na interação entre moléculas da amostra em análise e um canal iônico presente em uma membrana e a detecção do fluxo de íons é o sinal a ser detectado.

Uma membrana biológica, como anteriormente citado, naturalmente apresenta nanoporos proteicos ou canais iônicos que são o meio de vários processos fisiológicos que ocorrem nos seres vivos e possuem a capacidade de reconhecer espécies químicas, perceberem parâmetros físicos e principalmente selecionar elementos para entrada ou saída do meio intra e extra-celular (Aguiar *et al.*, 2015) e é essa versatilidade da membrana o caráter explorado nesse tipo de biossensor.

2.3.1.6. Sensores Capacitivos

O sinal desse tipo de sensor é baseado na capacitância, ou seja, em um sinal numérico que indica a capacidade de armazenar carga de uma estrutura, molécula etc (Shalkhammer, 2002). Essa capacidade é medida por meio de um eletrodo imerso em eletrólito que pode conter uma sonda redox (modo faradaico) ou não (modo não faradaico), sendo que a primeira mede variações na carga eletrostática da superfície do eletrodo, podendo ser acopladas a sistemas de canais iônicos; e a segunda mede variações na resistência de transferência de carga entre a sonda e a superfície do eletrodo (Garrote, 2022).

2.3.1.7. Sensores Piezométricos

Possui como base a Piezoelectricidade descoberta pelos irmãos Curie, em que é explorado a capacidade de gerar carga de algumas estruturas cristalinas (Curie; Curie, 1880). De acordo com Monteiro (2011), os sensores piezométricos medem a variação da amplitude de frequência de ressonância de um material utilizado, formado de cristais piezoelétricos e essa variação é oriunda de um aumento de massa do transdutor, permitindo assim, que esses sensores sejam capazes de determinar a massa de analitos já que não é necessário realizar marcação bioquímica e sistemas de detecção óptica.

Esse tipo de sensor vem sendo muito utilizado para medir concentração de patógenos, por exemplo, ao combinar a especificidade de anticorpos com a sensibilidade da microbalança de cristais de quartzo, obtendo assim, uma medida de concentração. Sua principal aplicação é na indústria alimentar com a detecção de patógenos em alimentos (Babacan, 2002; Oliveira; Pereira, 2016).

2.3.1.8. Sensores de Ondas Acústicas

Estes sistemas operam via propagação de ondas acústicas em uma superfície. Eletrodos, normalmente de metal, são colocados bem próximos entre si e sobre uma superfície piezoelétrica, assim, um sinal elétrico é aplicado nos eletrodos, formando uma onda. De acordo com Covacevice (2012), os transdutores são ressoadores, que consistem em um oscilador, no qual a onda oscila em uma frequência específica sob tensão alternada e cada transdutor produz ondas ortogonais aos eletrodos.

Além disso, os materiais utilizados para construção do substrato ou meio de propagação da onda, normalmente são materiais piezoelétricos, em que o cristal de quartzo é o material mais utilizado para a construção deste biossensor, pois possui um baixo coeficiente de temperatura. Além do quartzo, o niobato de lítio (LiNbO₃), Arseneto de Gálio (GaAs), óxido de Zinco (ZnO) e Nitreto de Alumínio (AlN) também podem ser utilizados (Covacevce, 2012).

2.3.1.9. Biossensores ópticos

Estes biossensores utilizam uma sonda de fibra óptica com enzimas ou marcadores fluorescentes imobilizados em suas extremidades, permitindo assim, que haja uma detecção óptica do analito. O sinal detectado é uma mudança da densidade óptica do comprimento de onda, ou seja, mede a luz emitida oriunda de uma reação (Oliveira; Pereira, 2016).

Com isso, estes biossensores podem explorar diversas propriedades ópticas para detecção, como o comprimento de onda, índice de refração, fluorescência, fosforescência e refletividade (Jin *et al.*, 2016).

2.3.1.10. Biossensores Térmicos

Segundo Lucena (2021), este tipo de sensor mede a energia térmica que é absorvida ou emitida de uma reação biológica ou química e possui como base a calorimetria - área da física responsável pelo estudo das trocas de energia térmica em forma de calor (Bassalo, 1991). Assim como outros biossensores, os biossensores térmicos possuem capacidade de miniaturização, trazendo vantagens de estabilidade, aumento de sensibilidade e fácil manuseio do sistema. A miniaturização destes biossensores é uma alternativa aos convencionais (Lee; Lee, 2012), já que possuem robusta tecnologia para construção e requerem grandes volumes de amostra (Lucena, 2021).

2.3.2. Aplicações dos Biossensores para o setor Agro

Por apresentarem alta estabilidade e sensibilidade quando comparados com métodos tradicionais, os biossensores apresentam diversas aplicações. Segundo Mehrotra, 2016, uma importante aplicação é no processamento de alimentos com o objetivo de participar do monitoramento, garantir a qualidade e segurança alimentar. Como citado anteriormente, a principal utilização dos biossensores nesse contexto é a de detecção de patógenos, além disso, o acompanhamento do processo de fermentação também é outra forma de utilização, assim como monitoramento de moléculas-chave indicadoras de qualidade como glicose, glutamina, entre outras (Mehrotra, 2016).

O uso de biossensores são diversos no setor Agro, diferentes tipos são utilizados para detectar diferentes patógenos, moléculas, íons ou hormônios. Na literatura é possível encontrar um grande número de pesquisas envolvendo a tecnologia, como a utilização de biossensores potenciométricos para detecção de produtos químicos como pesticidas (Alcântara, 2004), biossensores eletroquímicos para a detecção de íons metálicos em tecidos vegetais (Embrapa, 2018) e utilização de biossensores comerciais como BIACORE™ para detecção de proteínas no leite de bovinos (Gillis *et al.*, 2002). Pesquisadores da *Linköping University*,

desenvolveram biossensores capazes de detectar níveis de açúcares em tempo real a partir de uma conexão direta com a planta (Redação AgEvolution, 2021); na Europa, um projeto nomeado *Food Screening EMR* que engloba a participação de empresas e a Universidade de Maastricht, está a desenvolver um biossensor óptico capaz de detectar vitaminas em frutas e legumes, permitindo aos produtores garantir a qualidade de seus produtos (Velez, 2022).

Além disso, os sensores estão cada vez mais sendo acoplados a dispositivos digitais, com destaque para aqueles acoplados ou integrados a sistemas de Internet das Coisas (IoT), dentre os principais, estão tecnologias que visam minimizar ou até mesmo impedir a disseminação de doenças no campo por meio da detecção precoce. Um dispositivo que pode ser conectado a smartphones e que detecta compostos orgânicos voláteis emitidos pelas plantas é um exemplo, como indicado pelo jornal Correio Braziliense (Germano, 2019).

2.4. Regulamentação

Não há regulamentação de produtos de diagnóstico PoCT específica para a detecção de fitopatógenos e doenças não humanas, apenas para a saúde humana. Como a regulamentação é generalista e faz proposições, na maioria das vezes, não específicas, é recomendável que instituições que produzam este tipo de diagnóstico para o setor agro, sigam tais normas até onde for possível.

Conforme citado anteriormente, há dois regulamentos que abordam o conceito de *Point of Care Testing*, ambos resoluções da ANVISA: RDC nº 36/2015 e RDC nº 302/2005. Com o objetivo de melhor compreender a regulamentação, ambas as resoluções serão descritas abaixo.

1.8.1 RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 302, DE 13 DE OUTUBRO DE 2005

Essa resolução dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos e tem como objetivo definir os requisitos para o funcionamento dos laboratórios e postos de coleta laboratorial públicos ou privados que realizam atividades na área de análises clínicas, patologia clínica e citologia e é aplicável a todos os serviços públicos ou privados, que realizam atividades laboratoriais nas áreas citadas.

No tópico 4 da resolução, são descritas algumas definições, dentre elas a de Teste Laboratorial Remoto (TLR), o qual no tópico 6 descreve Processos Operacionais, mais especificamente no tópico 6.2 de Processos Operacionais da Fase Analítica, no qual são feitas as seguintes proposições:

“6.2.13 A execução dos Testes Laboratoriais Remotos – TLR (Point-of-care) e de testes rápidos, deve estar vinculada a um laboratório clínico, posto de coleta ou serviço de saúde pública ambulatorial ou hospitalar.

6.2.14 O Responsável Técnico pelo laboratório clínico é responsável por todos os TLR realizados dentro da instituição, ou em qualquer local, incluindo, entre outros, atendimentos em hospital-dia, domicílios e coleta laboratorial em unidade móvel.

6.2.15 A relação dos TLR que o laboratório clínico executa deve estar disponível para a autoridade sanitária local.

6.2.15.1 O laboratório clínico deve disponibilizar nos locais de realização de TLR procedimentos documentados orientando com relação às suas fases pré-analítica, analítica e pós-analítica, incluindo:

- a) sistemática de registro e liberação de resultados provisórios;
- b) procedimento para resultados potencialmente críticos;
- c) sistemática de revisão de resultados e liberação de laudos por profissional habilitado.

6.2.15.2 A realização de TRL e dos testes rápidos está condicionada a emissão de laudos que determinem suas limitações diagnósticas e demais indicações estabelecidos no item 6.3.

6.2.15.3 O laboratório clínico deve manter registros dos controles da qualidade, bem como procedimentos para a realização dos mesmos.

6.2.15.4 O laboratório clínico deve promover e manter registros de seu processo de educação permanente para os usuários dos equipamentos de TLR.” (Adaptado de ANVISA, 2005)

Em conclusão, as exigências para liberar produtos PoCT devem seguir alguns requisitos que podem ser divididos em seis itens:

a) Responsável Técnico: “Profissional legalmente habilitado que assume perante a Vigilância Sanitária a Responsabilidade Técnica do laboratório clínico ou do posto de coleta laboratorial” (ANVISA, 2005). Este profissional é responsável por todos os testes realizados na instituição ou em qualquer local (fora da instituição).

b) Documentação dos procedimentos: Dentre os documentos, estão o Alvará sanitário ou Licença de Funcionamento ou Licença Sanitária do estabelecimento. O Laudo Laboratorial também é obrigatório e será descrito mais adiante. O estabelecimento também deve possuir os registros, de modo a garantir rastreabilidade do laudo.

c) Laudo: Documento obrigatório que contenha as análises laboratoriais, validados e autorizados pelo técnico do laboratório. Os laudos devem conter alguns itens considerados essenciais que foram descritos no tópico 6.3.3 da resolução em questão:

- “a) identificação do laboratório;
- b) endereço e telefone do laboratório;
- c) identificação do Responsável Técnico (RT);
- d) nº. de registro do RT no respectivo conselho de classe profissional;
- e) identificação do profissional que liberou o exame;
- f) nº. registro do profissional que liberou o exame no respectivo conselho de classe do profissional
- g) nº. de registro do Laboratório Clínico no respectivo conselho de classe profissional;
- h) nome e registro de identificação do cliente no laboratório;
- i) data da coleta da amostra;

- j) data de emissão do laudo;
- k) nome do exame, tipo de amostra e método analítico;
- l) resultado do exame e unidade de medição;
- m) valores de referência, limitações técnicas da metodologia e dados para interpretação;
- n) observações pertinentes. “ (Adaptado de ANVISA, 2005)

d) Controle de Qualidade: Envolve todas as técnicas e atividades operacionais do estabelecimento que tem como objetivo garantir os requisitos de qualidade do produto e do estabelecimento.

e) Treinamento: O estabelecimento deve promover treinamentos permanentes aos seus funcionários assim como manter o registro de cada treinamento.

f) Testes Laboratoriais: Todos os testes e análises realizados pelo laboratório devem ser registrados.

1.8.2 RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 36, DE 26 DE AGOSTO DE 2015

Essa resolução dispõe sobre a classificação de risco, regimes de controle de cadastro e registro e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de produtos para diagnóstico in vitro, inclusive seus instrumentos, além de fornecer outras providências que devem ser aplicadas a todos os produtos para diagnóstico in vitro fabricados em território nacional e àqueles fabricados em outros países que venham a ser importados para o Brasil.

Na seção II, em parágrafo único tópico 4, essa resolução declara explicitamente que não se aplica “aos reagentes laboratoriais que sejam destinados ao diagnóstico de qualquer amostra não humana” (ANVISA, 2013). Portanto, fica novamente comprovado que não existe regulamentação no Brasil que seja aplicável às instituições que produzem produtos de diagnóstico PoCT para o setor Agro. Entretanto, tal resolução será brevemente detalhada, a fim de tornar claro os requisitos necessários para regulamentação desse diagnóstico para a saúde humana, a fim de elucidar quais seriam os possíveis requisitos para regulamentação do mesmo tipo de diagnóstico para o setor Agro.

Esta resolução é dividida em sete capítulos, sendo o primeiro, disposições gerais, ou seja, descrição do objetivo e da abrangência da resolução, assim como algumas definições importantes. No capítulo 2, seção 1, a resolução elabora diversos requisitos que são de suma importância para a regularização junto à ANVISA:

a) Classificar o produto quanto ao Risco:
O risco do produto pode ser dividido em quatro (Art. 4º), e segue cinco critérios (Art. 5º), conforme descrito a seguir:

“Art. 4º Para fins de regularização junto à ANVISA, os produtos para diagnóstico in vitro são enquadrados nas seguintes classes de risco:

I – Classe I: produtos de baixo risco ao indivíduo e baixo risco à saúde pública;

II – Classe II: produtos de médio risco ao indivíduo e ou baixo risco à saúde pública;

III – Classe III: produtos de alto risco ao indivíduo e ou médio risco à saúde pública;

IV – Classe IV: produtos de alto risco ao indivíduo e alto risco à saúde pública. “

Art. 5º A classificação de risco dos produtos para diagnóstico in vitro é baseada nos seguintes critérios:

I – indicação de uso especificada pelo fabricante;

II – conhecimento técnico, científico ou médico do usuário;

III – importância da informação fornecida ao diagnóstico;

IV – relevância e impacto do resultado para o indivíduo e para a saúde pública;

V – relevância epidemiológica.” (ANVISA, 2013).

b) Estabelecer as Regras de Classificação do do produto: São descritas na seção 2 do mesmo capítulo e tem o objetivo de auxiliar quanto à classificação de risco. Nesta seção, são encontradas descrições detalhadas das finalidades do produto como forma de justificativa de classificação. Nesta resolução, o único produto com finalidade PoCT descrito é o de detecção de gases e glicose no sangue, entretanto, em um parágrafo único na mesma seção (Seção 2), é informado que quaisquer produtos de diagnóstico PoCT que diferem desta finalidade, devem ser classificados independentemente, seguindo as regras explicitadas na resolução em questão.

c) Estabelecer o Regime de Controle de cada classificação (Seção 3):

“Art. 17. Os produtos para diagnóstico in vitro das Classes I e II estão sujeitos a cadastro.

Art. 18. Os produtos para diagnóstico in vitro das Classes III e IV estão sujeitos a registro”. (ANVISA, 2013).

No capítulo 3, são estabelecidos requisitos gerais documentais, onde são descritos como realizar Petições de Cadastro e de Registro de produtos; Petições de Alteração de ambas as situações; Petições de Revalidação de Registro e Petições de Cancelamento de ambas as situações.

No capítulo 4, é descrito como deve ser feito o Dossiê Técnico do produto de acordo com a classe de risco, o qual deve conter necessariamente a descrição do produto, imagem dos produtos, relatório de gerenciamento de riscos do produto, lista de normas técnicas adotadas, Certificado de Conformidade, estudos de desempenho, estabilidade do produto, desempenho clínico do produto, endereço da unidade fabril e processos de fabricação contendo fluxograma do processo de produção.

No capítulo 5 são descritos os requisitos de rotulagem e instruções de uso, que devem indicar informações de segurança e eficácia do produto de forma que

um profissional ou um usuário leigo sejam capazes de compreender. De maneira geral, as instruções de uso devem ser claras e apresentar a finalidade, nome e descrição do produto, indicar para quem este produto é destinado (usuário final), descrever os tipos de amostras que são utilizadas, indicar recomendações e limitações de uso, apontar quais substâncias podem interferir ou limitar o desempenho do produto e apontar os riscos, alertas ou precauções a serem tomadas ao manusear o produto.

As condições de cancelamento de cadastro ou registro e disposições finais são descritas nos capítulos 6 e 7, respectivamente. A ANVISA pode cancelar o cadastro ou registro do produto de diagnóstico *in vitro* em caso de informação falsa ou cancelamento de qualquer um dos documentos listados na seção 3, que são: Comprovante de pagamento da Taxa de fiscalização de Vigilância Sanitária (TFV); formulário ANVISA; Comprovante de Certificação em Boas Práticas de Fabricação e Controle ou comprovante de protocolo de solicitação de Certificado de BPF e formulário da ANVISA disponibilizado no momento da petição de registro do produto.

Por fim, também pode haver cancelamento do cadastro ou registro caso o produto ou processo de fabricação apresente risco à saúde do consumidor, paciente, operador ou terceiros envolvidos.

2.4.1. Outras regulamentações

A Norma Brasileira ABNT NBR ISO 14971 de 2009 rege os produtos para a saúde e descreve a aplicação do gerenciamento de risco destes produtos. O objetivo desta norma é fornecer uma estrutura de consulta para os fabricantes de produtos da saúde, de forma que possam analisar e comprovar a conformidade de seus produtos conforme os requisitos de segurança e desempenho. Entretanto, a norma não traz menção específica para produtos de diagnóstico PoCT.

Além disso, algumas regulamentações internacionais abordam especificamente os dispositivos PoCT e também podem ser utilizadas como base para a produção nacional:

- a) CLSI POCTT01-A2 (Point-of-Care Connectivity; Approved Standard, Second Edition): Esse documento prevê uma estrutura de consulta para engenheiros, para garantir a projeção de dispositivos, estabelecimentos e outros setores de forma a formar uma rede de comunicação bidirecional entre o dispositivo PoCT e os pontos de acesso, gerenciadores de dados e sistemas de informações laboratoriais de diversos fornecedores.
- b) CLSI POCT04 (Essential Tools for Implementation and Management of a Point-of-Care Testing Program, 3rd Edition): Fornece direcionamento para usuários de diagnóstico *in vitro* fora de laboratórios médicos sobre como garantir resultados confiáveis e comparáveis aos realizados em laboratórios médicos.
- c) CLSI POCT08-A (Quality Practices in Noninstrumented Point-of-Care Testing: An Instructional Manual and Resources for Health Care Workers): É

um guia para aumentar a qualidade de testagem laboratorial para autoteste para usuários sem experiência e conhecimento laboratorial.

d) CLSI POCT09 (Selection Criteria for Point-of Care Testing Devices): Esse documento é um guia que fornece critérios de seleção de dispositivos PoCT baseado no ambiente de atendimento ao paciente e necessidades clínicas.

e) CLSI POCT07-A (Quality Management: Approaches to Reducing Errors at Point-of-Care): Esse documento apresenta padronizações a serem seguidas para minimizar erros, reduzir risco e aumentar a qualidade de PoCTs.

f) ISO 11073-90101:2008 (Health informatics. Point-of-care medical device communication Part 90101: Analytical instruments): Esse documento estabelece especificações que permitem a operabilidade de fornecedores e comunicação entre dispositivos PoCT, gerentes de dados e informação clínica.

g) ISO 22870:2016. (Point-of-care testing (POCT) Requirements for quality and competence): Possui aplicabilidade quando o dispositivo PoCT é realizado em hospitais, clínicas e atendimento ambulatorial e fornece requisitos que devem ser usados em conjunto com a ISO 15189 (Medical laboratories Requirements for quality and competence).

h) ISO/TS 22583:2019 (Guidance for supervisors and operators of point-of-care testing (POCT) devices): Esse documento é um guia para supervisores e operadores de serviços de testes PoCT.

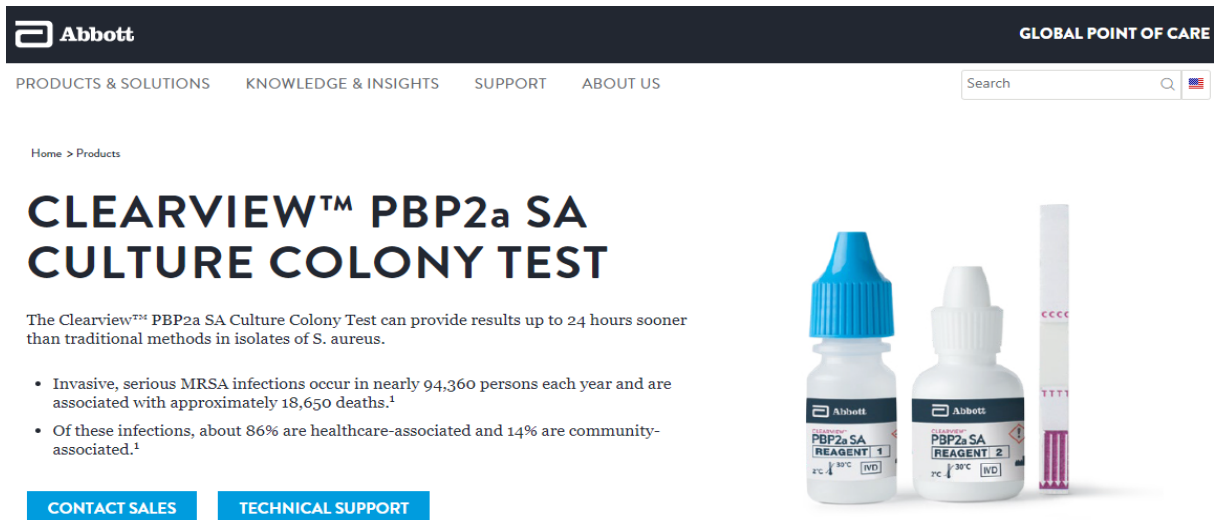
2.5. Produtos Comerciais e em Desenvolvimento no setor Agro

O mercado Agro de diagnóstico PoCT é possivelmente um mercado em ascensão. A necessidade de diagnósticos precisos, rápidos, à campo e baratos estão em alta demanda, uma vez que este setor possui bastante peso no PIB brasileiro e para que isso se mantenha, tecnologias que possuam essas características são necessárias (Possamai *et al.*, 2019).

Com o objetivo de realizar uma análise sobre produtos PoCT com aplicação para o setor em questão, foi possível realizar um levantamento de empresas brasileiras e estrangeiras que produzem produtos comerciais *Point of Care* voltados para detecção de doenças animais e de plantas e outras moléculas, através de pesquisa na literatura e análise de relatórios de empresas especializadas em análise de mercado, a fim de avaliar quais são as principais metodologias utilizadas e quais produtos encontram-se em desenvolvimento.

Em uma análise do catálogo de produtos de 23 empresas estrangeiras reconhecidas por fabricarem produtos de diagnósticos PoCT (Abbott Laboratories; Quidel; Danaher; Bio-Rad; Thermo Fisher Scientific; Cardinal Health; Orasure; Trinity Biotech; Meridian Bioscience; Chembio Diagnostic Systems; MedMira;

Polymedco; AccuBiotech; Roche; Horiba; Werfen; Siemens Healthineers; Sysmex; EFK Diagnostics; Merck; Sinocare; PTS Diagnostics; Medline Industries), apenas duas apresentaram produtos voltados para o setor Agro, todos eles para a área da veterinária: *Abbot Laboratories* desenvolveu o produto nomeado CLEARVIEW™ PBP2a SA CULTURE COLONY TEST, um teste de fluxo lateral que detecta *Staphylococcus aureus* e EFK Diagnostics desenvolveu produtos nomeados de Lactate Scout Vet e Hemovet, ambos são sensores que detectam os níveis de lactose e hemoglobina, respectivamente, no sangue de pacientes animais.



Abbott GLOBAL POINT OF CARE

PRODUCTS & SOLUTIONS KNOWLEDGE & INSIGHTS SUPPORT ABOUT US

Home > Products

CLEARVIEW™ PBP2a SA CULTURE COLONY TEST

The Clearview™ PBP2a SA Culture Colony Test can provide results up to 24 hours sooner than traditional methods in isolates of *S. aureus*.

- Invasive, serious MRSA infections occur in nearly 94,360 persons each year and are associated with approximately 18,650 deaths.¹
- Of these infections, about 86% are healthcare-associated and 14% are community-associated.¹

[CONTACT SALES](#) [TECHNICAL SUPPORT](#)

Figura 8. Teste ClearView™ da empresa Abbot Laboratories para detecção de *S. aureus*. O kit fornece um resultado em 5 minutos e pode ser armazenado à temperatura ambiente. Contém dois reagentes, uma embalagem contendo 25 tiras de detecção, 25 estantes de suporte e 25 tubos de ensaio (Adaptado de ©2023 Abbott Laboratories).

Lactate Scout Vet



Accurate lactate measurement
to drive animal care decisions

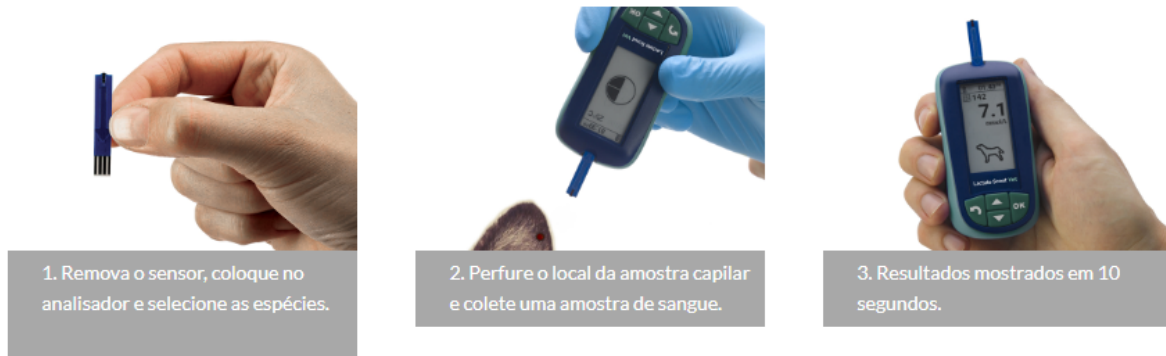


Figura 9. Sensor Lactate Scout Vet da empresa EFK Diagnostics. O sensor possui tamanho de um chip e é do tipo amperométrico e o aparelho de análise tem tamanho pequeno de 91 x 46 x 21mm. Ao entrar em contato com uma amostra sanguínea através do sensor, o resultado é mostrado no visor do aparelho em até 10 segundos (Adaptado de © 2023 EFK Diagnostics).

Hemo Vet hemoglobin analyzer



Figura 10. Sensor Hemovet da empresa EFK Diagnostics para análise de hemoglobina e hematócrito. O sensor fica alocado no interior de uma aparelho analisador e é do tipo fotométrico, o analisador possui tamanho compacto de 160 mm x 160mm x 68mm e pesa 700g. Ao inserir uma amostra sanguínea, coletada em uma microcuveta, no interior do aparelho analisador, o resultado aparece no visor entre 25 e 60 segundos (Adaptado de © 2023 EFK Diagnostics).

2.5.1. Principais produtos comerciais para o setor Agro

Com uma pesquisa avançada na literatura, algumas poucas empresas estrangeiras, talvez as principais, foram identificadas com catálogo de produtos voltados para o setor da agricultura, como a empresa Envirologix, que desenvolveu testes de fluxo lateral para detecção de proteínas expressas por organismos geneticamente modificados (OGM), sendo os produtos nomeados de TotalTrait™ Comb for Soy e TotalTrait™ Comb for Corn suas soluções mais completas para detecção, em um mesmo teste, de várias proteínas de soja e milho. A empresa também conta com um catálogo de kits com testes de fluxo lateral para detecção de micotoxinas como aflatoxina, fumonisina, ocratoxina, toxinas T-2 e HT-2, vomitoxina e zearalenona, sendo seu produto mais completo, um conjunto de ferramentas nomeado TotalTox™, um conjunto único de pentes com possibilidade de identificação de até 48 amostras, sendo o primeiro e único do mercado até o momento. Para compor seu catálogo e entregar ainda mais independência ao seu cliente, a empresa desenvolveu um sistema flexível de leitura de tiras de OGM e micotoxinas nomeado de QuickScan, permitindo quantificação da leitura e rastreabilidade.

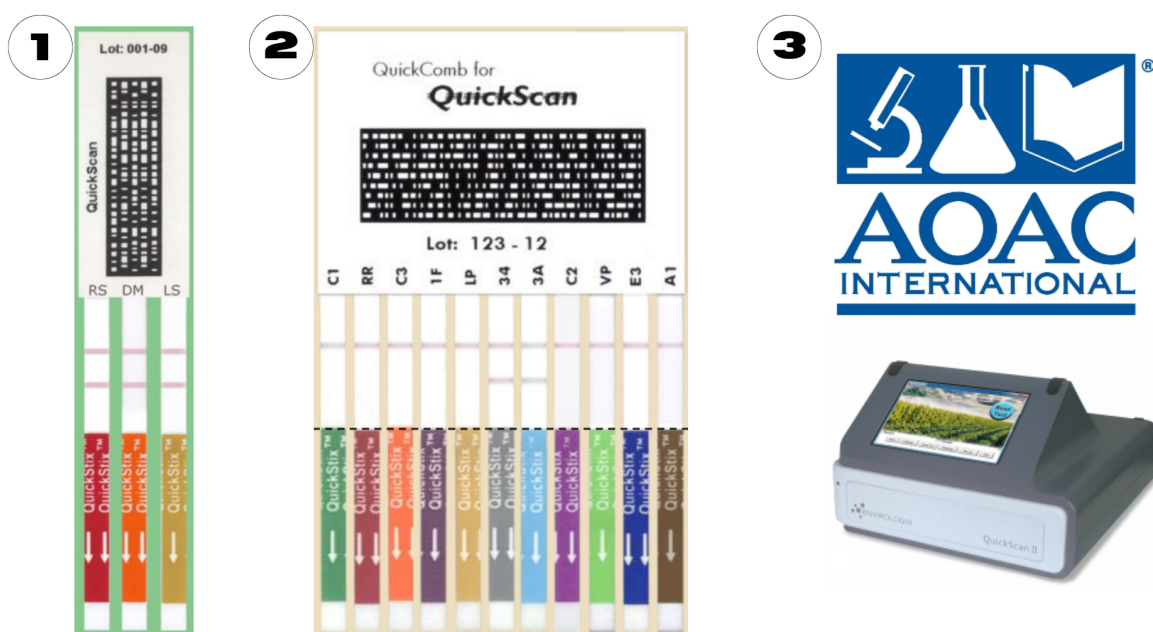


Figura 11. Produtos TotalTrait™ Comb for Soy (1); TotalTrait™ Comb for Corn (2) e QuickScan (3) da empresa Envirologix. Os testes TotalTrait™ para soja e milho são compostos por múltiplas tiras de fluxo lateral, formando um pente, o kit também inclui copos de amostra e pipetas de transferência descartáveis e não contém reagente, o resultado é obtido apenas com água, o resultado é revelado em até 5 minutos. O aparelho QuickScan é um scanner portátil capaz de ler e interpretar os resultados obtidos da testagem de fluxo lateral, basta alocar o teste em uma gaveta. Sua capacidade de leitura é de até 22 testes (Adaptado de © 2023 Envirologix).

Além disso, a empresa Agdia, se tornou referência no mercado de diagnósticos de OGMs além de ser reconhecida no ramo de detecção de fitopatógenos, com um catálogo de produtos desenvolvidos para diversas culturas

como banana, cucurbitáceas, batata, tomate, berinjela, uva, lúpulo, pimenta, orquídea, dália, milho, soja, trigo e cannabis.

Os produtos destinados à detecção de fitopatógenos em sua maioria são testes de fluxo lateral ImmunoStrip®, o qual a empresa possui um catálogo robusto para detectar vírus, bactérias e fungos de várias culturas. Seguindo no mesmo alinhamento, a empresa suíça BIOREBA, possui um robusto catálogo para detecção de até 18 fitopatógenos diferentes através de produto comercial nomeado AgriStrip.

A detecção de micotoxinas pela tecnologia de teste de fluxo lateral também encontra lugar em um produto comercial nomeado AgraStrip® Pro WATEX®, da empresa austríaca Romer Labs, assim como a empresa Pocket Diagnostic®, especialista em kits para detecção de fitopatógenos como *Erwinia amylovora*, *Phytophthora* spp, *Ralstonia solanacearum*, Vírus Y da batata (PVY), e detecção de ácidos nucleicos pós-amplificação, compatíveis com amplificação via LAMP ou RPA.



Figura 12. Produtos ImmunoStrip® (1); AgriStrip (2) e AgraStrip® Pro WATEX® (3) das empresas Agdia, Bioreba e Romer Lab's respectivamente (Adaptado) .

Com a utilização de metodologias de amplificação isoterma, a empresa Agdia também desenvolveu kits sob o nome AmplifyRP®, para detecção de vírus, bactérias e fungos fitopatogênicos. Esses kits fornecem todos os reagentes necessários para amplificar ácidos nucleicos em tempo real. Os produtos AmplifyRP® Acceler8®, são produtos que permitem uma amplificação ainda mais rápida para diagnóstico de fitopatógenos. Além disso, a empresa conta com um produto nomeado Phytodetek®, um kit de imunoenensaio monoclonal ELISA para detecção do hormônio Ácido abscísico (ABA). A empresa Eiken Chemical co. possui produtos baseados na metodologia LAMP direcionados para o monitoramento ambiental com detecção de *Legionella* sp, *Cryptosporidium* sp e *Giardia*; qualidade sanitária de alimentos, com detecção de *Salmonella* sp, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Flavobacterium* sp, entre outros; reprodução animal, com produtos LAMP para a sexagem de embriões bovinos e patógenos que acometem peixes.



Figura 13. Produtos AmplifyRP® (1) e AmplifyRP® Acceler8® (2) da empresa Agdia (Adaptado de © 2023 Agdia).

Migrando para os biossensores, a empresa Cytiva desenvolveu um biossensor de ressonância plasmônica de superfície (SPR) nomeado BIACORE™ que também vem sendo acoplado a algumas tecnologias para detecções no setor Agro, como a detecção de hormônios no leite de bovinos (Guillis *et al.*, 2002). A empresa conta ainda com uma ampla gama de chips para detecção de proteínas animais e humanas e com o próprio software de avaliação, entregando um pacote completo para o usuário da tecnologia. Com dimensões menores, portátil e com possibilidade de uso *online* o biossensor comercial SPREETA™ da empresa Sensata é uma alternativa ao BIACORE e pode ser utilizado para detecção de proteínas em leite de bovinos, caprinos e ovinos (Haasnoot *et al.*, 2006). A empresa Windsor Scientific Ltd desenvolveu o sensor comercial IBIS, que em algumas evoluções do modelo, alcançou o produto IBIS T5000, no qual foi possível detectar e quantificar todas as bactérias conhecidas além dos principais fungos e vírus que acometem humanos e animais (Ecker *et al.*, 2008).

Outros biossensores comerciais com possível aplicação para o setor agro são os biossensores SPR670 e SPR-CELLIA, ambos da empresa Nippon Laser Electronics e destinados à detecção de células (Baird; Myszka, 2001); o biossensor IASys da empresa Affinity Sensors, destinado a detecção de interações biomoleculares (Nicu, 2008); biossensor piezoelétrico PZ 106 Immunobiosensor System da empresa Universal Sensors capaz de detectar interações antígeno-anticorpo (Minnuni *et al.*, 1995); biossensor amperométrico BIOS-1 da empresa Artificial Sensing Instruments, destinado a detecção de células (Owen, 1997) e biossensor amperométrico NECi, o qual foi testado para detecção de nitrato pela sua fabricante, a empresa Nitrate Elimination Co. Inc., com o objetivo de ajudar agricultores na gestão de nutrientes, fornecendo análises rápidas de campo (Campbell, 2010)

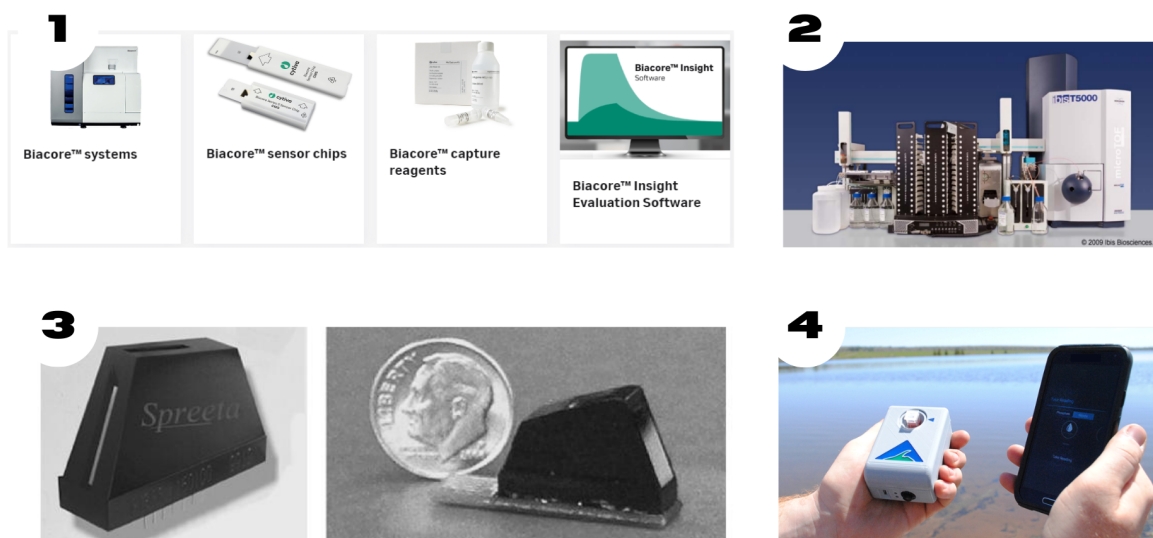


Figura 14. Produtos BIACORE™ (1) e seus derivados; IBIS T5000 (2); SPREETA™ (3) e NECi (4) das empresas Cytiva; Windsor Scientific Ltd; Sensata e Nitrate Elimination Co. Inc, respectivamente (Adaptado). A tecnologia BIACORE™ é diversa, composta por aparelhos sensores e chips de detecção baseados em ressonância plasmônica de superfície (SPR), além de reagentes para testagem e um software de leitura. Já o aparelho IBIS T5000 é um aparelho grande, mas portátil, composto por um sensor de espectrômetro de massa capaz de interpretar ácidos nucleicos. O aparelho SPREETA™ é um micros sensor (do tamanho de uma moeda), que também se baseia em SPR. O aparelho NECi é um sensor fotométrico conectável ao celular (Adaptado de © 2023 Cytiva; Ecker, 2008; © 2023 Nitrate Elimination Co. Inc; © 2023 Sensata Technologies).

2.6 Análise Econômica e Mercadológica

2.6.1 Mercado de diagnósticos *Point of Care* para o Agronegócio

O mercado de diagnóstico PoCT é amplo pois os produtos com essa tecnologia atendem diversas demandas dos produtores, como a detecção rápida, precisa e específica de fitopatógenos e doenças animais, algo importante para a rápida tomada de decisão na escolha do(s) método(s) de controle. Com a ampliação do desenvolvimento de produtos PoCT, há perspectivas de atender ainda mais setores produtivos, além do Agro (Market Data Forecast, 2023).

O principal setor e o que faz com que o diagnóstico PoCT tenha crescido tanto, é a área da saúde humana, principalmente após a eclosão da pandemia da COVID-19, a qual ocasionou uma rápida expansão desse mercado. Alguns dados de empresas especialistas em pesquisa de mercado, estimam um crescimento global de US\$ 14,65 bilhões entre 2022 e 207, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 10,65% para o mesmo período (Technavio, 2023). Já de 2023 a 2030, a CAGR estimada foi de 6,50% (Grand View Research, 2023).

Em 2022, o mercado de diagnóstico PoCT foi avaliado em US\$ 40,61 bilhões e os dados mais recentes indicam que em 2023 atingirá US\$ 44,23 bilhões (Grand View Research, 2023). Já analisando relatórios específicos do mercado para a América Latina, o valor do mercado chegou a US\$ 2,98 bilhões em 2022 e

estima-se que atinja US\$ 4,74 bilhões até 2027, com CAGR de 9,68% (Market Data Forecast, 2023).

Várias empresas foram encontradas com produtos destinados ao diagnóstico PoCT em seus catálogos, entretanto, poucas com produtos para o setor Agro, por exemplo, as empresas brasileiras encontradas possuem um status de Startup, o que indicam que surgiram recentemente e seus produtos ou se encontram em desenvolvimento ou são produtos destinados para um mercado novo, como é o caso do mercado Agro de diagnóstico PoCT. Ao todo, foi possível identificar 16 empresas estrangeiras com produtos comerciais voltadas para o setor (tabela 2) e 13 startups brasileiras com alguma tecnologia PoCT aplicável ao setor Agro (tabela 3). Apesar de ainda haver poucas empresas brasileiras com produtos comerciais para o setor, a pesquisa científica para o desenvolvimento de novas tecnologias na área é de grande escala e diversos sistemas vêm sendo desenvolvidos para detecção de diversos alvos.

Tabela 2. Empresas estrangeiras que possuem produtos PoCT em seu catálogo. Tabela contendo nome da empresa, localização geográfica e endereço eletrônico consultado.

| Empresas | Localidade | Endereço Eletrônico Consultado |
|--------------------------------|-------------|--|
| Abbott Laboratories | EUA | www.globalpointofcare.abbott |
| Affinity Sensors | Reino Unido | Obtido através de citação em estudo (Nicu, 2008) |
| Agdia | EUA | orders.agdia.com |
| Artificial Sensing Instruments | Suíça | Obtido através de citação em estudo (Minnuni et al., 1995) |
| BIOREBA | Suíça | www.bioreba.ch |
| Cytiva Life Science | EUA | www.cytivalifesciences.com |
| EFK Diagnostics | Reino Unido | www.ekfdiagnostics.com |
| Eiken Chemical | Japão | www.eiken.co.jp |
| Envirologix | EUA | www.envirologix.com |
| Nippon Laser Eletronics | Japão | www.researchgate.net |
| Nitrate Elimination Co. Inc | EUA | nitrate.com |

| Empresas | Localidade | Endereço Eletrônico Consultado |
|----------------------|-------------|--|
| Pocket Diagnostic | Reino Unido | www.pocketdiagnostic.com |
| Romer Labs | Austria | www.romerlabs.com |
| Sensata Technologies | EUA | www.sensata.com |
| Universal Sensors | Austrália | www.universalbiosensors.com |
| Windsor Scientific | Reino Unido | Obtido através de citação em estudo (Bairs; Myszka, 2001) |

2.6.2. O mercado Brasileiro

De acordo com a empresa *Market Data Forecast* (2023), o Brasil é considerado um mercado emergente para o diagnóstico PoCT, oferecendo alto potencial de crescimento para empresas do ramo e dentre os motivos então o aumento de iniciativas de participantes do mercado, aumento da base de pacientes e aumento de parcerias e empreendimentos conjuntos. Além disso, em 2019, o Brasil dominou a indústria de diagnóstico PoCT na América Latina, gerando uma participação de receita em mais de 41% com tendência de aumento devido à atuação do Sistema Único de Saúde (SUS).

Em um livro elaborado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (2021) é destacado que a Biotecnologia e Softwares de agricultura digital e precisão estão em crescente uso. A biotecnologia voltada para o setor agro tem permitido superar desafios como proteger culturas contra insetos, plantas daninhas e fitopatógenos sem necessariamente recorrer a produtos e serviços que prejudiquem o meio ambiente. Além disso, a biotecnologia tem oferecido aumento de rendimento, redução de custos de produção e maior retorno financeiro, principalmente ao caminhar junto com a agricultura digital.

Como citado anteriormente, a tecnologia digital principal utilizada no setor Agro é a de dados ou imagens de sensores de campo sobre plantas, animais, solo, água, clima, doenças ou pragas (Bolfe *et al.*, 2021), com tendência de aumento, visto que ainda existe baixa disponibilidade de ferramentas e tecnologias para aplicação na produção e as principais aplicações das tecnologias em agricultura digital, em que o diagnóstico PoCT possa estar inserido, estão entre as mais utilizadas, dentre elas: tecnologias que garantam o Bem-Estar animal; Detecção de plantas daninhas; Detecção de doenças; Detecção de pragas e Detecção de deficiências nutricionais (Bolfe *et al.*, 2021).

Diante disso e da revisão de literatura realizada com as principais metodologias utilizadas, é possível identificar setores do mercado de diagnóstico PoCT crescentes:

- a) Controle Sanitário Animal e Biossegurança: Talvez sejam os setores com mais produtos destinados à comercialização dentro deste mercado. A garantia da saúde do gado e evitar a disseminação de doenças de aves e suínos são finalidades de uso desse tipo de diagnóstico.
- b) Monitoramento de pragas e doenças de plantas: Este setor tem mostrado crescimento promissor na utilização de diagnóstico PoCT pois garante mais agilidade e independência na tomada de decisão de controle.
- c) Qualidade de água e solo: Os diagnósticos PoCT podem encontrar função na detecção de fitopatógenos presentes no solo ou na avaliação nutricional do mesmo. Testes PoCT de qualidade da água já são conhecidos no mercado e são essenciais para garantir uma produção de qualidade.

Os principais players que compõem o mercado brasileiro são empresas estrangeiras, principalmente se o setor em questão for o da área da saúde humana. Porém, algumas empresas estrangeiras vem produzindo produtos com aplicação para o setor Agro como abordado no capítulo 1 em “Produtos comerciais e em desenvolvimento para o setor Agro”.

Como visto anteriormente, apenas 2 das 23 principais empresas que são conhecidas por produzirem diagnósticos PoCT, possuem produtos destinados ao Agro em seus catálogos. Entretanto, outras empresas estrangeiras que estão presentes no Brasil, são conhecidas por produzirem diagnósticos PoCT, como Roche Diagnostics, BD Company, BioMérieux SA, QIAGEN N.V, Hologic Inc, Danaher Corporation e Alere Inc, sendo a última, a única empresa com produtos que podem ser direcionados ao setor Agro, uma vez que é uma empresa de diagnóstico veterinário. As demais empresas possuem uma ampla gama de produtos PoCT, entretanto, todos destinados à saúde humana.

Já as principais empresas nacionais que produzem produtos de diagnóstico PoCT são Biotec do Brasil, Techmax, AllBiotech, WAMA, Bioclin, OrangeLife e ECO Diagnóstica, nos quais seus produtos variam e vão desde produtos simples e práticos de utilização única à produtos acoplados a outras tecnologias, apenas ECO Diagnóstica apresenta produtos que podem ser destinados ao setor agro, uma vez que também é uma empresa com produtos para diagnóstico veterinário.

Como se pode perceber, há escassez de empresas no Brasil que tenham em mente o diagnóstico voltado para o setor em questão, indicando que possivelmente o mercado brasileiro seja um potencial berço para novas empresas no ramo.

2.6.3. Perspectivas e Tendências do Setor Agro

Algumas tendências já são visíveis quando analisamos os modelos em desenvolvimento através da pesquisa científica, a integração de dispositivos, miniaturização, portabilidade e conectividade estão cada vez mais presentes no mercado internacional e com o mercado brasileiro possivelmente ocorrerá da mesma forma.

Cada vez mais se observam diagnósticos PoCT que sejam acopláveis com tecnologias digitais e conectáveis à internet. A integração dessas tecnologias com

sistemas IoT, por exemplo, permite a coleta de dados em tempo real, o que facilita o monitoramento de animais, plantas, água e solo, por exemplo. Além disso, uma crescente preocupação com a biossegurança, saúde humana e prevenção de doenças tem pressionado o setor Agro para produzir produtos cada vez mais saudáveis e livres de agrotóxicos e outros químicos, assim, o diagnóstico PoCT pode ser o caminho para garantir que produtos estejam dentro dos padrões exigidos para o mercado nacional e internacional.

Outra forte tendência do setor agro é a busca por práticas e métodos que aumentem cada vez mais a sustentabilidade e eficiência da produção. Utilizar métodos que permitem a prevenção, melhor planejamento de cultivo e redução da aplicação de químicos é visto com bons olhos não somente pelos consumidores, como pelos produtores, devido à redução de custos a longo prazo com químicos, irrigação, sementes resistentes e outros (Buzetti, 2023).

Como já se sabe, o Brasil vem investindo em pesquisas para o desenvolvimento de tecnologias para a biossegurança e prevenção de doenças. Com uma busca avançada no relatório de 2023 do Radar AgTech (Dias *et al.*, 2023), responsável pelo mapeamento de startups do setor Agro, foram constatadas 1.953 startups com diversas finalidades. Foram identificadas algumas atuantes no setor Agro que possuam metodologias ou tecnologias PoCT em forma de produto ou serviço:

Tabela 3. Startups que possuem relação com diagnóstico PoCT e com aplicação para o setor Agro, obtidas através de análise do relatório da Radar Agtech de 2023, contendo informações sobre o local no Brasil em que a empresa se encontra, seu ano de fundação, se possui site e/ou catálogo, qual a tecnologia utilizada do(s) produto(s) PoCT identificado(s) e endereço eletrônico consultado.

| Empresas | Localidade | Ano de fundação | Possui site e/ou catálogo ? | Tecnologia utilizada | Endereço Eletrônico Consultado |
|----------------|-------------------------|-----------------|-----------------------------|---|--|
| AlfaKit | Florianópolis SC | 1989 | Site e Catálogo | Kits (detecção de alumínio, fosfato, nitrato, nitrito, potássio, magnésio, e biogás) e equipamentos eletrônicos (fotocolorímetros e phmêtros portáteis). | alfakit.com.br |
| BIA Tecnologia | São Francisco do Sul SC | 2009 | Site | Criação de uma raquete coletora de leite para detecção de bactérias causadoras da mastite. O tipo de tecnologia não é explícita. | bia.ind.br |
| Bionexus | Chapecó SC | 2018 | Site e Catálogo | Análise de alimentos via espectroscopia eletroquímica e óptica. | bionexus.com.br |
| Doroth | Piracicaba SP | 2018 | Site e Catálogo | Biosensores com tecnologia Lab-ob-a-Chip e LAMP (chip microfluídico com reação LAMP embarcada) para identificação de genes de resistência, transgênicos, variantes e outros. Pode ser conectado ao celular. | doroth.com.br |

| Empresas | Localidade | Ano de fundação | Possui site e/ou catálogo? | Tecnologia utilizada | Endereço Eletrônico Consultado |
|----------------------|------------------|-----------------|----------------------------|---|---|
| Eco Diagnóstica | Nova Lima MG | 2012 | Site e Catálogo | Biossensor KetoVet para detecção de β -Cetona bovina e caprina; biossensor HemoVet para detecção e hematócrito e hemoglobina bovina; Biossensor Ca+Vet para detecção Cálcio no plasma bovino. | ecodiagnostica.com.br |
| Kidera Biotecnologia | Brasília DF | 2021 | Não | Testes de fluxo lateral para diagnóstico de fitopatógenos. | - |
| LM Insight | Uberlândia MG | - | Site | Detecção colorimétrica de componente em alimentos, bebidas e amostras humanas e animais (tecnologia não especificada). | www.linkedin.com/company/macofrentecnologias |
| Macofren | Brasília DF | 2012 | Site e Catálogo | Testes rápidos colorimétricos para detecção de metanol em combustíveis e contaminação por formaldeído. | www.linkedin.com/company/macofrentecnologias/ |
| Monitora Água | Tremembé SP | 2018 | Site e Catálogo | Ferramenta patenteada de teste colorimétrico, exclusiva para os parâmetros do agronegócio, usada de forma remota e online através de smartphones. | saadrodriques.wixsite.com/website |
| Neoprospeta | Joinville SC | 2011 | Site e Catálogo | Diagnóstico Microbiológico Digital; linha de testes rápidos para detecção de microorganismos e genes de resistência aos antibióticos e Plataforma Neobiome, que possibilita um diagnóstico rápido, preciso e sensível de microorganismos. | neoprospeta.com |
| Revella Agritech | Florianópolis SC | 2016 | Site | Nanobiossensor sem especificação para detecção de Salmonella sp. | revellaagritech.com |
| Scheme Lab | São Paulo SP | 2012 | Site | Testes de fluxo lateral para COVID-19. Desenvolvimento de testes para agricultura, sem especificação. | www.linkedin.com/company/scheme-lab/ |
| SpecLab | Sumaré SP | 2017 | Site e Catálogo | Associação entre computação cognitiva e sensores espectrais para determinação de propriedades nutricionais, químicas, físicas e biológicas de matérias-primas e produtos. | speclab.com.br |

Em uma análise do LinkedIn das empresas, foi possível constatar que algumas empresas com ano de fundação muito anterior à 2019, como é o caso das empresas BIA Tecnologia, Neoprospeta e Scheme Lab que iniciaram no ramo empreendedor com outros objetivos e depois adaptaram seus produtos ao mercado atual, incorporando produtos PoCT com aplicação para o setor Agro em seus catálogos (BIA Tecnologia, 2023; Neoprospeta 2023; Scheme Lab 2023).

É possível ainda que mais empresas nascentes apresentem tecnologia PoCT para o mercado Agro, entretanto, por serem empresas recentes, muitas vezes ainda não apresentam site, LinkedIn e muito menos um catálogo de produtos com

respectivos preços e por isso não foram adicionadas à tabela acima. Algumas ainda, estão em fase de desenvolvimento dos primeiros protótipos, como exemplo, a Startup Kidera Biotecnologia, já outras apresentaram projetos com metodologia PoCT que foram aprovados por editais de fomento recentemente entre 2020 e 2021, como é o caso da empresa Bionexus (Kidera Biotecnologia 2023; Bionexus, 2023).

2.6.4. Desafios do mercado brasileiro

Atualmente, talvez o principal desafio que o mercado de diagnóstico PoCT enfrenta no setor agro brasileiro, seja a falta de regulamentação específica para produtos da área, o que faz com que empresas novas no ramo ou com tendência de produção desses produtos, fique à mercê de regulamentações internacionais ou de adaptações das regulamentações brasileiras existentes, que são destinadas à saúde humana. A falta de regulamentação para produtos do setor agro ainda pode implicar em uma barreira ou empecilho para potenciais investidores em novas empresas do ramo, além de dificultar o planejamento e projetos de empresas já atuantes, visto que pode haver risco de não aprovação de produtos pela ANVISA.

Além disso, as resoluções atuais citam a necessidade de um profissional para realizar a testagem, o que para o Setor Agro não é desejável. Para a implementação de uma resolução, é necessário considerar que os diagnósticos PoCT para o setor não devem se limitar à execução por um profissional, visto que já existem produtos comerciais de empresas estrangeiras que podem ser manejadas por qualquer pessoa.

Outro desafio que cerca esse mercado é a aceitabilidade de novas tecnologias por parte de produtores rurais. Nem sempre novas tecnologias são abraçadas pelos produtores, pois os anos de prática e costume com métodos comprovadamente eficazes, os tornam não adeptos a novidades, principalmente pequenos e médios produtores ou produtores da Agricultura Familiar, o que possivelmente acaba condicionando o mercado à optar por buscar clientes que sejam produtores mais tecnicizados e com maior abertura à novas tecnologias. Além disso, o fator financeiro é de grande peso para a adoção de novas tecnologias. Os novos métodos devem ser baratos e trazer consigo soluções tão eficazes, que permitirão redução de custos, e ainda, tal redução deve ser bem visível ao produtor, ou seja, quanto menor o prazo para observar redução do custo, mais possibilidade de adoção da tecnologia.

Por fim, a competitividade dos dispositivos brasileiros deve ser levada em consideração, visto que existem grandes empresas estrangeiras fabricantes de produtos comerciais fortemente validados. Os produtos brasileiros devem apresentar valor que seja atraente para o mercado nacional e internacional e possuir qualidade equivalente aos produtos comerciais já existentes.

3. CONCLUSÃO

Com esta revisão sobre as principais metodologias utilizadas para o desenvolvimento de produtos para o setor Agro, foi possível identificar suas principais vantagens quando comparadas com metodologias convencionais, aquelas

realizadas em laboratório. Ao avaliar as resoluções brasileiras que abordam o termo PoCT e identificar diversas empresas estrangeiras que possuem produtos comerciais para o setor Agro, foi possível concluir que o mercado brasileiro apresenta três principais desafios: (I) Estabelecer uma regulamentação específica para o setor, ou modificar as existentes para que este e outros setores sejam contemplados, (II) Buscar formas de tornar os produtos já existentes aceitáveis por todos os potenciais usuários desta cadeia e buscar a aceitabilidade por produtos que ainda estão em fase desenvolvimento através do estabelecimento de parcerias para validação por exemplo e (III) garantir competitividade dos produtos brasileiros em relação aos produtos comerciais já existentes de empresas estrangeiras.

Apesar destes desafios, foi observado um crescente aumento do número de pesquisas que englobam o desenvolvimento de produtos PoCT, além de poucas empresas nacionais consolidadas no ramo e enorme escassez de produtos comerciais destinados ao setor Agro, o que possivelmente indica que o mercado para o setor em questão ainda é muito inexplorado e incipiente, mas possui tendências e perspectivas de crescimento, indicando que é um mercado em ascensão.

4. REFERÊNCIAS

ABBOT LABORATORIES. Abbott Clearview PBP2a Culture Colony Test - Microbial Identification Test Kits, Staphylococcus Testing. , 2023. Disponível em: <<https://www.fishersci.com/shop/products/clearview-pbp2a-culture-colony-test/23029985>>. Acesso em: 9 dez. 2023

ABE, T. et al. Point-of-care testing system enabling 30 min detection of influenza genes. *Lab on a Chip*, v. 11, n. 6, p. 1166–1167, 2011.

ABLORDEY, A. et al. Detection of Mycobacterium ulcerans by the loop mediated isothermal amplification method. *PLoS neglected tropical diseases*, v. 6, n. 4, p. e1590, 2012.

ABNT. NBR ISO 14971. Produtos para a saúde — Aplicação de gerenciamento de risco a produtos para a saúde. [s.l.] Abnt, 2009.

AGDIA. AmplifyRP® Isothermal Amplification. , 2023a. Disponível em: <<https://orders.agdia.com/pathogen-tests/amplifyrp>>. Acesso em: 9 dez. 2023

AGDIA. Pathogen ImmunoStrip® Tests. , 2023b. Disponível em: <<https://orders.agdia.com/pathogen-tests/immunostrip-tests>>. Acesso em: 9 dez. 2023

AGUIAR, J. P. et al. STOCHASTIC BIOSENSING BY A SINGLE PROTEIN NANOPORE IN THE DEVELOPMENT OF ANALYTICAL TOOLS. *Química Nova*, 2015.

AHMED, F. A. et al. Genome-informed diagnostics for specific and rapid detection of *Pectobacterium* species using recombinase polymerase amplification coupled with a lateral flow device. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 15972, 29 out. 2018.

AKINEDEN, Ö. et al. Nucleic acid lateral flow immunoassay (NALFIA) with integrated DNA probe degradation for the rapid detection of *Cronobacter sakazakii* and *Cronobacter malonaticus* in powdered infant formula. *Food Control*, v. 109, p. 106952, 2020.

ALCÂNTARA, M. Biossensor potenciométrico para a determinação de pesticidas inibidores da Acetilcolinesterase. [s.l.] Universidade Federal de Uberlândia, 2004.

ALHASSAN, A. et al. Expanding the MDx toolbox for filarial diagnosis and surveillance. *Trends in Parasitology*, v. 31, n. 8, p. 391–400, 2015.

ALI, M. M. et al. Rolling circle amplification: a versatile tool for chemical biology, materials science and medicine. *Chemical Society Reviews*, v. 43, n. 10, p. 3324–3341, 2014.

ALTIERI, M. F.; CAMARCA, M. Point of care testing. *Clinical Pediatric Emergency Medicine, New Frontiers in Pediatric Emergency Medicine*. v. 2, n. 4, p. 275–279, 2001.

ALVAREZ, M. M. et al. Portable and Label-Free Quantitative Loop-Mediated Isothermal Amplification (LF-qLamp) for Reliable COVID-19 Diagnostics in Three Minutes of Reaction Time: Arduino-Based Detection System Assisted by a pH Microelectrode. *Biosensors*, v. 11, n. 10, p. 386, 2021.

ANTHONY JOHNSON, A. M.; DASGUPTA, I.; SAI GOPAL, D. V. R. Development of loop-mediated isothermal amplification and SYBR green real-time PCR methods for the detection of Citrus yellow mosaic badnavirus in citrus species. *Journal of Virological Methods*, v. 203, p. 9–14, 2014.

ANVISA. Resolução RDC Nº 302, de 13 outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. , 2005. Disponível em:

<<https://www.crfsp.org.br/325-legislacao/5322-resolucao-rdc-no-302-de-13-de-outubro-de-2005-anvisa.html>>. Acesso em: 24 nov. 2023

ANVISA. Resolução RDC nº 16, de 28 de março de 2013. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação de Produtos Médicos e Produtos para Diagnóstico de Uso In Vitro e dá outras providências. , 2013.

ASIELLO, P. J.; BAEUMNER, A. J. Miniaturized isothermal nucleic acid amplification, a review. *Lab on a Chip*, v. 11, n. 8, p. 1420–1430, 2011.

AUGUSTINE, R. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP): A Rapid, Sensitive, Specific, and Cost-Effective Point-of-Care Test for Coronaviruses in the Context of COVID-19 Pandemic. *Biology*, v. 9, n. 8, p. 182, 2020.

AZO LIFE SCIENCES. What is Lab-on-a-Chip? AZoLifeSciences.com, 2020. Disponível em: <<https://www.azolifesciences.com/article/What-is-Lab-on-a-Chip.aspx>>. Acesso em: 9 dez. 2023

BABACAN, S. et al. Piezoelectric Flow Injection Analysis Biosensor for the Detection of Salmonella Typhimurium. *Journal of Food Science*, v. 67, n. 1, p. 314–320, 2002.

BADOLO, A. et al. Development of an allele-specific, loop-mediated, isothermal amplification method (AS-LAMP) to detect the L1014F kdr-w mutation in *Anopheles gambiae* s. l. *Malaria Journal*, v. 11, p. 227, 2012.

BADRY, N. Development and Validation of a Lateral Flow Device (LFD) Field Test Kit for Diagnosis of Potato Ring Rot. [s.l: s.n.].

BAEK, S. H. et al. Novel peptides functionalized gold nanoparticles decorated tungsten disulfide nanoflowers as the electrochemical sensing platforms for the norovirus in an oyster. *Food Control*, v. 114, p. 107225, 2020.

BAIRD, C. L.; MYSZKA, D. G. Current and emerging commercial optical biosensors. *Journal of Molecular Recognition*, v. 14, n. 5, p. 261–268, 2001.

BASSALO, J. M. F. A Crônica do Calor: Calorimetria - Sociedade Brasileira de Física. A Crônica do Calor: Calorimetria, 1992.

BATH, C. et al. Further development of a reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for the detection of foot-and-mouth

disease virus and validation in the field with use of an internal positive control. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 67, n. 6, p. 2494–2506, 2020.

BELLO, M. B. et al. Diagnostic and Vaccination Approaches for Newcastle Disease Virus in Poultry: The Current and Emerging Perspectives. *BioMed Research International*, v. 2018, p. 7278459, 2018.

BIA TECNOLOGIA. VACA ROXA. , 2023. Disponível em: <<https://bia.ind.br/>>. Acesso em: 10 dez. 2023

BIONEXUS. Bionexus – Innovation. , 2023. Disponível em: <<https://bionexus.com.br/br/>>. Acesso em: 10 dez. 2023

BIOREBA. BIOREBA: Your Partner in Agro-Diagnostics. Bioreba, 2023. Disponível em: <<https://www.bioreba.ch/>>. Acesso em: 9 dez. 2023

BLIN, M. et al. Development of environmental loop-mediated isothermal amplification (eLAMP) diagnostic tool for *Bulinus truncatus* field detection. *Parasites & Vectors*, v. 16, n. 1, p. 78, 2023.

BOLDBAATAR, B. et al. Rapid detection of rabies virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, v. 62, n. 3, p. 187–191, 2009.

BOLFE, E. L.; JORGE, L. A. DE C.; SANCHES, I. D. Tendências, desafios e oportunidades da Agricultura Digital no Brasil. 2021.

BORA, M. et al. Point of care diagnostics and non-invasive sampling strategy: a review on major advances in veterinary diagnostics. *Acta Veterinaria Brno*, v. 91, n. 1, p. 17–34, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Potencialidades e desafios do agro 4.0: GT III “Cadeias Produtivas e Desenvolvimento de Fornecedores” Câmara do Agro 4.0 (MAPA/MCTI). 1. ed. Brasília: Mapa/ACES, 2021.

BUCHTA, C. et al. Classification of “Near-patient” and “Point-of-Care” SARS-CoV-2 Nucleic Acid Amplification Test Systems and a first approach to evaluate their analytical independence of operator activities. *Journal of Clinical Virology*, v. 165, p. 105521, 2023.

BURNS, M. A. et al. An Integrated Nanoliter DNA Analysis Device. *Science*, v. 282, n. 5388, p. 484–487, 1998.

BÜSCHER, P. Nucleic acid lateral flow tests for molecular diagnosis: an update. *Expert Opinion on Medical Diagnostics*, v. 5, n. 2, p. 85–89, 2011.

BUZETTI, M. F. O novo Agronegócio no Brasil: uma visão de transformação aliada à sustentabilidade - Canal Agro Estadão. , 2023. Disponível em: <<https://summitagro.estadao.com.br/colunistas/o-novo-agronegocio-no-brasil-uma-vi-sao-de-transformacao-aliada-a-sustentabilidade/>>. Acesso em: 6 dez. 2023

CAI, Z. et al. A Photonic Crystal Protein Hydrogel Sensor for *Candida albicans*. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, v. 54, n. 44, p. 13036–13040, 2015.

CÂMARA, B. Imunocromatografia | Biomedicina Padrão. , 2012. Disponível em: <<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2012/06/imunocromatografia.html>>. Acesso em: 8 dez. 2023

CAMPBELL, W. H. Nitrate biosensor for agriculture - THE NITRATE ELIMINATION COMPANY, INC. USDA, , 2010. Disponível em: <<https://portal.nifa.usda.gov/web/crisprojectpages/0211055-nitrate-biosensor-for-agriculture.html>>. Acesso em: 26 nov. 2023

CAO, Z. et al. Clinical validation of visual LAMP and qLAMP assays for the rapid detection of *Toxoplasma gondii*. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 2022.

CEBULA, Z. et al. Detection of the Plant Pathogen *Pseudomonas Syringae* pv. *Lachrymans* on Antibody-Modified Gold Electrodes by Electrochemical Impedance Spectroscopy. *Sensors*, v. 19, n. 24, p. 5411, 2019.

CHEN, S. et al. LAMP detection of the genetic element “Mona” associated with DMI resistance in *Monilinia fructicola*. *Pest Management Science*, v. 75, n. 3, p. 779–786, 2019.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. POCT07-A: Quality Management: Approaches to Reducing Errors at the Point of Care; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, , 2019.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CSI). POCT01-A2: Point-of-Care Connectivity; Approved Standard—Second Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute, , 2006.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CSI). POCT08-A: Quality Practices in Noninstrumented Point-of-Care Testing: An Instructional Manual and Resources for Health Care Workers; Approved Guideline. Clinical and Laboratory Standards Institute, , 2010. Disponível em: <https://clsi.org/media/1621/poct08a_sample.pdf>

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CSI). POCT04 Essential Tools for Implementation and Management of a Point-of-Care Testing Program, 3rd Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute (CSI), , 2016. Disponível em: <<https://clsi.org/standards/products/point-of-care-testing/documents/poct04/>>.

Acesso em: 25 nov. 2023

COSTA, E. et al. Development of a lateral flow test for rapid pyrethroid detection using antibody-gated indicator-releasing hybrid materials. *Analyst*, v. 145, n. 10, p. 3490–3494, 2020.

COVACEVICE, A. C. T. Sensores baseados em ondas acústicas: introdução e aplicações. Monografia—[s.l.] Universidade Estadual de Campinas, 2012.

CRESCENTE, G. et al. Loop-mediated isothermal Amplification (LAMP) and its variants as simple and cost effective for genotyping method. v. 5, n. 3, p. 116, 2018.

CURIE, J.; CURIE, P. Développement par compression de l'électricité polaire dans les cristaux hémihédres à faces inclinées. *Bulletin de Minéralogie*, v. 3, n. 4, p. 90–93, 1880.

CYTIVA LIFE SCIENCE. Sandwich or competitive format: which is right for your LFA? Cytiva Life Science, 2022. Disponível em: <<https://www.cytivalifesciences.com/en/us/news-center/lateral-flow-assay-format-sandwich-or-competitive-10001>>. Acesso em: 6 dez. 2023

CYTIVA LIFE SCIENCE. BIACORE™. , 2023. Disponível em: <<https://www.cytivalifesciences.com/en/us/about-us/our-brands/biacore>>. Acesso em: 9 dez. 2023

DANKS, C.; BARKER, I. On-site detection of plant pathogens using lateral-flow devices*. *EPPO Bulletin*, v. 30, n. 3–4, p. 421–426, 2000.

DAS, B. et al. Nanozymes in Point-of-Care Diagnosis: An Emerging Futuristic Approach for Biosensing. *Nano-Micro Letters*, v. 13, n. 1, p. 193, 2021.

DELUDE, A. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for specific and rapid detection of *Dickeya fangzhongdai* targeting a unique genomic region. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, p. 19193, 2022.

DENG, G. et al. High sensitive immunoassay for multiplex mycotoxin detection with photonic crystal microsphere suspension array. *Analytical Chemistry*, v. 85, n. 5, p. 2833–2840, 2013.

DENG, R.; ZHANG, K.; LI, J. Isothermal Amplification for MicroRNA Detection: From the Test Tube to the Cell. *Accounts of Chemical Research*, v. 50, n. 4, p. 1059–1068, 2017.

DIAS, C. N.; JARDIM, F.; SAKUDA, L. O. Radar AgTech Brasil 2023: Mapeamento das Startups do Setor Agro Brasileiro. Embrapa, SP Ventures e Homo Ludens. Brasília e São Paulo, 2023. Disponível em: <<https://radaragtech.com.br/relatorio-interativo-do-radar-agtech-brasil-2023/>>.

Acesso em: 9 dez. 2023

DRAIN, P. K. et al. Diagnostic point-of-care tests in resource-limited settings. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 14, n. 3, p. 239–249, 2014.

DU, D. et al. Integrated lateral flow test strip with electrochemical sensor for quantification of phosphorylated cholinesterase: biomarker of exposure to organophosphorus agents. *Analytical Chemistry*, v. 84, n. 3, p. 1380–1385, 2012.

DU, L. et al. A reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) assay for detecting the pathogen of maize rough dwarf disease in China. *Australasian Plant Pathology*, v. 48, n. 5, p. 485–489, 2019.

ECKER, D. J. et al. Ibis T5000: a universal biosensor approach for microbiology. *Nature Reviews. Microbiology*, v. 6, n. 7, p. 553–558, 2008a.

ECKER, D. J. et al. Ibis T5000: a universal biosensor approach for microbiology. *Nature Reviews. Microbiology*, v. 6, n. 7, p. 553–558, 2008b.

ECONOLAB. Pistilo 1,5ml estéril Axygen. Econolab, 2023. Disponível em: <<https://www.econolab.com.br/produto/pistilo-15ml-esteril-axygen/>>. Acesso em: 9 dez. 2023

EFK DIAGNOSTICS. Diagnostics for animal welfare. , 2023. Disponível em: <<https://www.ekfdiagnostics.com/veterinary.html>>. Acesso em: 9 dez. 2023

EHRENKRANZ, J. R. L. Home and Point-of-Care Pregnancy Tests: A Review of the Technology. *Epidemiology*, v. 13, n. 3, p. S15–S18, 2002.

EMBRAPA. Brazilian agriculture gains an unprecedented boost: electrochemical biosensors are able to detect and quantify metallic ions in plant tissues - Portal Embrapa. , 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/busca-de-projetos/-/projeto/209908/agricultura-brasileira-ganha-um-reforco-inedito-biossensores-eletroquimicos-sao-capazes-de-detectar-e-quantificar-ions-metalicos-em-tecidos-vegetais>>. Acesso em: 26 nov. 2023

ENVIROLOGIX. Envirologix Catálogo. EnviroLogix, 2023. Disponível em: <<https://www.envirologix.com.br/catalog/>>. Acesso em: 9 dez. 2023

FAIRCLOUGH, P. K. et al. An evaluation of patient performance of and their satisfaction with various rapid blood glucose measurement systems. *Diabetes Care*, v. 6, n. 1, p. 45–49, 1983.

FAKRUDDIN, MD. Loop mediated Isothermal Amplification (LAMP) - An Alternative to Polymerase Chain Reaction (PCR). *Bangladesh Research Publications Journal*, v. 5, p. 425–439, 2011.

FAN, F. et al. Development of a LAMP Method for Detecting SDHI Fungicide Resistance in *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, v. 102, n. 8, p. 1612–1618, 2018.

FANG, Q. et al. A bare-eye based one-step signal amplified semiquantitative immunochromatographic assay for the detection of imidacloprid in Chinese cabbage samples. *Analytica Chimica Acta*, v. 881, p. 82–89, 2015.

FANG, X. et al. Loop-mediated isothermal amplification integrated on microfluidic chips for point-of-care quantitative detection of pathogens. *Analytical Chemistry*, v. 82, n. 7, p. 3002–3006, 2010.

FERNÁNDEZ-SOTO, P. et al. Detection of *Schistosoma mansoni*-derived DNA in human urine samples by loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *PloS One*, v. 14, n. 3, p. e0214125, 2019.

FILHO, H.; HEINRICH, G.; 1981-. Diagnóstico de Imunoensaios de fluxo lateral por meio de reconhecimento de padrões. 2019.

FIRE, A.; XU, S. Q. Rolling replication of short DNA circles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 92, n. 10, p. 4641–4645, 1995.

FUKUTA, S. et al. Detection of tomato yellow leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification reaction. *Journal of Virological Methods*, v. 112, n. 1–2, p. 35–40, 2003.

FUKUTA, S. et al. Differential detection of Wheat yellow mosaic virus, Japanese soil-borne wheat mosaic virus and Chinese wheat mosaic virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification reaction. *Journal of Virological Methods*, v. 189, n. 2, p. 348–354, 2013.

GALVEZ, L. C. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assays for the detection of abaca bunchy top virus and banana bunchy top virus in abaca. *Crop Protection*, v. 131, p. 105101, 2020.

GANDASEGUI, J. et al. A field survey using LAMP assay for detection of *Schistosoma mansoni* in a low-transmission area of schistosomiasis in Umbuzeiro, Brazil: Assessment in human and snail samples. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 3, p. e0006314, 2018.

GARROTE, B. L. Label-Free Electrochemical Capacitive Biological Sensors for Molecular Diagnostics. [s.l.] Universidade Estadual Paulista, 2022.

GASSÓ DE CAMPOS, M. et al. Sistema “Point of Care” de mediación de la resorción ósea en orina y comparación con otros métodos. *Rev. esp. enferm. metab. óseas* (Ed. impr.), p. 41–45, 2003.

GE, W. et al. Rapid detection of triazophos in cucumber using lateral flow immunochromatographic assay. *Food and Agricultural Immunology*, v. 31, n. 1, p. 1051–1060, 2020.

GERMANO, CAMILA. Dispositivo que detecta e identifica pragas traz proteção a lavouras. Disponível em: https://www.correiobraziliense.com.br/app/noticia/tecnologia/2019/08/19/interna_tecnologia,777912/dispositivo-que-detecta-e-identifica-pragas-traz-protexao-a-lavouras.shtml. Acesso em: 26 nov. 2023.

GILL, P.; AMREE, A. H. Allele-Specific Loop-Mediated Isothermal Amplification for the Detection of IVSII-I G>A Mutation On β -Globin Gene. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, v. 7, n. 10, p. 1582–1587, 2019.

GILL, P.; AMREE, A. H. AS-LAMP: A New and Alternative Method for Genotyping. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, v. 12, n. 1, p. 2–8, 2020.

GILL, P.; GHAEMI, A. Nucleic Acid Isothermal Amplification Technologies—A Review. *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, v. 27, n. 3, p. 224–243, 2008.

GILLIS, E. H. et al. Development and validation of a biosensor-based immunoassay for progesterone in bovine milk. *Journal of Immunological Methods*, v. 267, n. 2, p. 131–138, 2002.

GOMES, E. C. DE S.; BARBOSA JÚNIOR, W. L.; MELO, F. L. DE. Evaluation of SmITS1-LAMP performance to diagnosis schistosomiasis in human stool samples from an endemic area in Brazil. *Experimental Parasitology*, v. 242, p. 108389, 2022.

GOMES, Y. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Assay for Rapid and Accurate Confirmatory Diagnosis of HTLV-1/2 Infection. *Viruses*, v. 12, n. 9, p. 981, 2020.

GRAND VIEW RESEARCH. Point Of Care Diagnostics Market Size & Share Report, 2030. Disponível em:

<<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/point-of-care-poc-diagnostics-industry>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

GUO, Y.-R. et al. Gold immunochromatographic assay for simultaneous detection of carbofuran and triazophos in water samples. *Analytical Biochemistry*, v. 389, n. 1, p. 32–39, 2009.

HAASNOOT, W.; MARCHESINI, G. R.; KOOPAL, K. Spreeta-based biosensor immunoassays to detect fraudulent adulteration in milk and milk powder. *Journal of AOAC International*, v. 89, n. 3, p. 849–855, 2006.

HONG, G. et al. Evaluation of the illumigene *C. difficile* assay for toxigenic *Clostridium difficile* detection: a prospective study of 302 consecutive clinical fecal samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 80, n. 3, p. 177–180, 2014.

HTUN, Z. M. et al. Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) for Identification of *Pythium insidiosum*. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 101, p. 149–159, 2020.

HUO, C. et al. A Novel Lateral Flow Assay for Rapid and Sensitive Nucleic Acid Detection of *Avibacterium paragallinarum*. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 8, 2021.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO/TS 22583:2019. Guidance for supervisors and operators of point-of-care testing (POCT) devices. , 2019. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/73506.html>>. Acesso em: 25 nov. 2023

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 11073-90101:2008. Health informatics: Point-of-care medical device communication. Part 90101: Analytical instruments, Point-of-care test. , 2008. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/44084.html>>. Acesso em: 25 nov. 2023

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). ISO 22870:2016. Point-of-care testing (POCT) Requirements for quality and competence. , 2016. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/71119.html>>. Acesso em: 25 nov. 2023

ISHIKAWA, K. et al. Rapid detection of fig mosaic virus using reverse transcription loop-mediated isothermal amplification. *Journal of General Plant Pathology*, v. 81, n. 5, p. 382–389, 2015.

JANG, W. S. et al. Development of a multiplex Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for on-site diagnosis of SARS CoV-2. *PloS One*, v. 16, n. 3, p. e0248042, 2021.

JARA, M. D. L. et al. Lateral flow assay applied to pesticides detection: recent trends and progress. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 29, n. 31, p. 46487–46508, 2022.

JIN, Z. et al. A stable and high resolution optical waveguide biosensor based on dense TiO₂/Ag multilayer film. *Applied Surface Science*, v. 377, p. 207–212, 2016.

JOHANN, C. A. A Educação em direitos humanos nos ambientes escolares e a parceria de Defensores Públicos para seu fomento em tempos de intolerância. 2023.

JUSCAMAYTA-LÓPEZ, E. et al. A Multiplex and Colorimetric Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay for Sensitive and Rapid Detection of Novel SARS-CoV-2. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, 2021.

KHALIFIAN, S.; RAIMONDI, G.; BRANDACHER, G. The Use of Luminex Assays to Measure Cytokines. *Journal of Investigative Dermatology*, v. 135, n. 4, p. 1–5, 2015.

KHLEBTSOV, B. N. et al. Quantifying the Numbers of Gold Nanoparticles in the Test Zone of Lateral Flow Immunoassay Strips. *ACS Applied Nano Materials*, v. 2, n. 8, p. 5020–5028, 2019.

KHODAPARAST, M. et al. In-field LAMP assay for rapid detection of human faecal contamination in environmental water. *Environmental Science: Water Research & Technology*, v. 8, n. 11, p. 2641–2651, 2022.

KIDERA BIOTECNOLOGIA. LinkedIn Kidera Biotecnologia. , 2023. Disponível em: <<https://www.linkedin.com/in/kidera-biotecnologia-67592422a/>>. Acesso em: 10 dez. 2023

KIEVITS, T. et al. NASBA isothermal enzymatic in vitro nucleic acid amplification optimized for the diagnosis of HIV-1 infection. *Journal of Virological Methods*, v. 35, n. 3, p. 273–286, 1991.

KING, K. M. et al. Novel Multiplex and Loop-Mediated Isothermal Amplification Assays for Rapid Species and Mating-Type Identification of *Oculimacula acuformis* and *O. yallundae* (Causal Agents of Cereal Eyespot), and Application for Detection of Ascospore Dispersal and In Planta Use. *Phytopathology®*, v. 111, n. 3, p. 582–592, 2021.

KOCZULA, K. M.; GALLOTTA, A. Lateral flow assays. *Essays in Biochemistry*, v. 60, n. 1, p. 111, 2016.

KOKANE, A. D. et al. A Rapid and Sensitive Reverse Transcription–Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Assay for the Detection of Indian Citrus Ringspot Virus. *Plant Disease*, v. 105, n. 5, p. 1346–1355, 2021.

KOLOREN, Z.; KAYA, D.; AVSAR, C. Detection of cryptosporidium species in the sea and tap water samples of Black Sea, Turkey. *Journal of Parasitology*, v. 99, n. 3, p. 554–557, 2013.

KOUZAKI, Y. et al. PURE-LAMP Procedure for the Diagnosis of Extrapulmonary Tuberculosis: A Case Series. *Internal Medicine (Tokyo, Japan)*, v. 54, n. 11, p. 1447–1450, 2015.

KOZEL, T. R.; BURNHAM-MARUSICH, A. R. Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Past, Present, and Future. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 55, n. 8, p. 2313–2320, 2017.

KULABHUSAN, P. K. et al. Field-Usable Lateral Flow Immunoassay for the Rapid Detection of White Spot Syndrome Virus (WSSV). *PLOS ONE*, v. 12, n. 1, 2017.

KUMAR, S. et al. Magnetic Multiplex Loop Mediated Isothermal Amplification (MM-LAMP) technique for simultaneous detection of dengue and chikungunya virus. *Journal of Virological Methods*, v. 300, p. 114407, 2022.

LARREA-SARMIENTO, A. et al. Development of a genome-informed loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and specific detection of *Xanthomonas euvesicatoria*. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, p. 14298, 24 set. 2018.

LEE, S. et al. Rapid and in-situ detection of fecal indicator bacteria in water using simple DNA extraction and portable loop-mediated isothermal amplification (LAMP) PCR methods. *Water Research*, v. 160, p. 371–379, 2019.

LEE, W.; LEE, J.; KOH, J. Development and applications of chip calorimeters as novel biosensors. *Nanobiosensors in Disease Diagnosis*, v. 1, p. 17–29, 2012.

LEE-LEWANDROWSKI, E.; LEWANDROWSKI, K. Point-of-Care Testing: An Overview and a Look to the Future. *Clinics in Laboratory Medicine, Point-of-Care Testing*. v. 21, n. 2, p. 217–240, 2001.

LI, J. et al. One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification for the rapid detection of cucumber green mottle mosaic virus. *Journal of Virological Methods*, v. 193, n. 2, p. 583–588, 2013.

LIU, D. et al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* using a capillary-array microsystem with integrated DNA extraction, loop-mediated isothermal amplification, and fluorescence detection. *Analytical Chemistry*, v. 85, n. 9, p. 4698–4704, 2013.

LÓPEZ-SORIANO, P. et al. Lateral flow immunoassay for on-site detection of *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* in symptomatic field samples. *PLOS ONE*, v. 12, n. 4, p. e0176201, 2017.

LU, X. et al. A Rapid, Equipment-Free Method for Detecting *Phytophthora infestans* in the Field Using a Lateral Flow Strip-Based Recombinase Polymerase Amplification Assay. *Plant Disease*, v. 104, n. 11, p. 2774–2778, 2020.

LU, Y. et al. The detection of ACLSV and ASPV in pear plants by RT-LAMP assays. *Journal of Virological Methods*, v. 252, p. 80–85, 2018.

LUAN, C. et al. Folic Acid-Functionalized Hybrid Photonic Barcodes for Capture and Release of Circulating Tumor Cells. *ACS applied materials & interfaces*, v. 10, n. 25, p. 21206–21212, 2018.

LUCENA, R. P. S. DE. Genossensores eletroquímicos baseados em nanoestruturas de grafeno e filme de politiofeno para a detecção e identificação de papiloma vírus humano. *Dissertação de Mestrado—[s.l.] Universidade Federal de Pernambuco*, 2021.

MA, L. et al. Comparison between gold nanoparticles and FITC as the labelling in lateral flow immunoassays for rapid detection of *Ralstonia solanacearum*. *Food and Agricultural Immunology*, v. 29, n. 1, p. 1074–1085, 2018.

MAK, W. C.; BENI, V.; TURNER, A. P. F. Lateral-flow technology: From visual to instrumental. *TrAC Trends in Analytical Chemistry, Past , Present and Future challenges of Biosensors and Bioanalytical tools in Analytical Chemistry: a tribute to Prof Marco Mascini*. v. 79, p. 297–305, 2016.

MARKET DATA FORECAST. Latin America Point of Care (POC) Diagnostics/Testing Market Growth | 2022 to 2027 | Brazil, Mexico. Disponível em: <<http://www.marketdataforecast.com/>>. Acesso em: 25 nov. 2023.

MARTÍN-RAMÍREZ, A. et al. Usefulness of a commercial LAMP assay for detection of malaria infection, including *Plasmodium knowlesi* cases, in returning travelers in Spain. *BMC Research Notes*, v. 15, n. 1, p. 147, 2022.

MATOVU, E. et al. Optimisation of template preparation and laboratory evaluation of the Loopamp™ *Trypanosoma brucei* kit for detection of parasite DNA in blood. *Experimental Parasitology*, v. 211, p. 107844, 2020.

MEHROTRA, P. Biosensors and their applications – A review. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, v. 6, n. 2, p. 153–159, 2016.

MINUNNI, M. et al. The Quartz Crystal Microbalance as Biosensor. A Status Report on Its Future. *Analytical Letters*, v. 28, n. 5, p. 749–764, 1995.

MIRICA, A.-C. et al. Latest Trends in Lateral Flow Immunoassay (LFIA) Detection Labels and Conjugation Process. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, v. 10, 2022.

MONTEIRO, T. S. Desenho e otimização do processo de fabrico de um biossensor piezoelétrico de base polimérica. masterThesis—[s.l: s.n.].

MOR, M.; WAISMAN, Y. Point-of-care testing: A critical review. *Pediatric Emergency Care*, v. 16, n. 1, p. 45, 2000.

MOREIRA, C. S. et al. *Biosensores: Tecnologia e Aplicações*. 2013.

MORI, Y. et al. Real-time turbidimetry of LAMP reaction for quantifying template DNA. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, v. 59, n. 2, p. 145–157, 2004.

MORI, Y.; KANDA, H.; NOTOMI, T. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): recent progress in research and development. *Journal of Infection and Chemotherapy*, v. 19, n. 3, p. 404–411, 2013.

MUKAI, T. [Development of rapid and simple genomic diagnostic method]. *Nihon Hansenbyo Gakkai Zasshi = Japanese Journal of Leprosy: Official Organ of the Japanese Leprosy Association*, v. 75, n. 3, p. 265–269, 2006.

NAMOUNTOUGOU, M. et al. First report of the L1014S kdr mutation in wild populations of *Anopheles gambiae* M and S molecular forms in Burkina Faso (West Africa). *Acta Tropica*, v. 125, n. 2, p. 123–127, 2013.

NAZARI-VANANI, R.; HELI, H.; SATTARAHMADY, N. An impedimetric genosensor for *Leishmania infantum* based on electrodeposited cadmium sulfide nanosheets. *Talanta*, v. 217, p. 121080, 2020.

NCBI. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP). 2017.

NEOPROSPECTA. LinkedIn Neopropecta. , 2023. Disponível em: <<https://www.linkedin.com/company/neopropecta-food/about/>>. Acesso em: 10 dez. 2023

NEVES, C. G.; SOUZA JÚNIOR, I. T. D.; BARROS, D. R. D. Amplificação isotérmica mediada por loop para detecção de patógenos de plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, p. 7–34, 2022.

NICU, L. Biomechanical sensors from the macro to the nanoscale - the way forward. 2008.

NITRATE ELIMINATION CO. INC. NECi Superior Enzymes. , 2023. Disponível em: <<https://nitrate.com/>>. Acesso em: 9 dez. 2023

NKOUAWA, A. et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Differentiation and Rapid Detection of Taenia Species. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 47, n. 1, p. 168–174, 2009.

NORONHA, M. A. O que é impedância elétrica?: Romagnole. Disponível em: <<https://www.romagnole.com.br/noticias/o-que-e-impedancia-eletrica/>>. Acesso em: 18 nov. 2023.

NOTOMI, T. et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, v. 28, n. 12, p. e63, 2000.

OLIVEIRA, A. E. F.; PEREIRA, A. C. Biossensores e a Indústria Alimentar - Revisão. *Revista Virtual de Química*, v. 8, n. 5, 2016.

OWEN, V. Real-time optical immunosensors — A commercial reality. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 12, n. 1, p. i–ii, 1997.

PANFEROV, V. G. et al. Silver-enhanced lateral flow immunoassay for highly-sensitive detection of potato leafroll virus. *Food and Agricultural Immunology*, v. 29, n. 1, p. 445–457, 2018.

PANNO, S. et al. Loop Mediated Isothermal Amplification: Principles and Applications in Plant Virology. *Plants*, v. 9, p. 461, 2020.

PARIDA, M. et al. Rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes by a real-time reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 43, n. 6, p. 2895–2903, 2005.

PARK, H. et al. Loop-mediated isothermal amplification assay for screening congenital cytomegalovirus infection in newborns. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 107, n. 22, p. 6789–6798, 2023.

PENG, D. et al. One-step reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for detection of Apple chlorotic leaf spot virus. *Journal of Virological Methods*, v. 248, p. 154–158, 2017.

PLUTZER, J.; TÖRÖKNÉ, A.; KARANIS, P. Combination of ARAD microfibre filtration and LAMP methodology for simple, rapid and cost-effective detection of human pathogenic *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in drinking water. *Letters in Applied Microbiology*, v. 50, n. 1, p. 82–88, 2010.

POSSAMAI, R.; SERIGATI, F.; SEVERO, K. A balança comercial do agro frente às turbulências internacionais. *AgroANALYSIS*, v. 39, n. 11, p. 16–17, 2019.

QIN, J. et al. Fabrication of intelligent photonic crystal hydrogel sensors for selective detection of trace mercury ions in seawater. *Journal of Materials Chemistry C*, v. 5, n. 33, p. 8482–8488, 2017.

QIN, J. et al. Emerging biosensing and transducing techniques for potential applications in point-of-care diagnostics. *Chemical Science*, v. 13, n. 10, p. 2857–2876, 2022.

REDAÇÃO AGEVOLUTION. Suecos criam biossensor ligado diretamente às plantas. *AgEvolution*, 2021. Disponível em: <<https://agevolution.canalrural.com.br/suecos-criam-biossensor-conectado-diretamente-as-plantas/>>. Acesso em: 27 nov. 2023

REZAEI, M. et al. Point of Care Diagnostics in the Age of COVID-19. *Diagnostics*, v. 11, n. 1, p. 9, 2021.

RIBEIRO, S. A.; CRUZ, A. S. DA; CRUZ, A. D. DA. LOOP MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION ASSAY (LAMP): UMA REVISÃO DETALHADA SOBRE A TÉCNICA. *Revista Estudos - Vida e Saúde (Revista de Ciências Ambientais e Saúde)*, v. 48, n. 1, p. 8809–8809, 2021.

ROHATENSKY, M. G. et al. Assessing the performance of a Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) assay for the detection and subtyping of high-risk suptypes of Human Papilloma Virus (HPV) for Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma (OPSCC) without DNA purification. *BMC Cancer*, v. 18, p. 166, 2018.

ROMER LABS. AgraStrip® Pro WATEX® | Fast, simple mycotoxin testing. , 2023. Disponível em: <<https://www.romerlabs.com/en/agrastrip-pro-watex>>. Acesso em: 9 dez. 2023

SAFENKOVA, I. V. et al. Development of a lateral flow immunoassay for rapid diagnosis of potato blackleg caused by *Dickeya* species. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 409, n. 7, p. 1915–1927, 2017.

SAJID, M.; KAWDE, A.-N.; DAUD, M. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. *Journal of Saudi Chemical Society*, v. 19, n. 6, p. 689–705, 2015.

SALINAS, N. R.; LITTLE, D. P. Electric LAMP: Virtual Loop-Mediated Isothermal AMPLification. *ISRN bioinformatics*, v. 2012, p. 696758, 2012.

SANTIAGO-FELIPE, S. et al. Real-time loop-mediated isothermal DNA amplification in compact disc micro-reactors. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 79, p. 300–306, 2016.

SANTOS, A. R. DOS. Teste de Troponina Cardíaca no Point-of-Care para o diagnóstico da síndrome coronariana aguda: uma revisão sistemática de literatura. 2021.

SANTOS, C. A. DOS et al. Detection of SARS-CoV-2 in Saliva by RT-LAMP During a Screening of Workers in Brazil, Including Pre-Symptomatic Carriers. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 32, p. 2071–2077, 2021.

SASTRE, P. et al. Development of a novel lateral flow assay for detection of African swine fever in blood. *BMC Veterinary Research*, v. 12, n. 1, p. 206, 2016.

SCHALKHAMMER, T. G. M. Biosensors. Em: SCHALKHAMMER, T. G. M. (Ed.). *Analytical Biotechnology. Methods and Tools in Biosciences and Medicine*. Basel: Birkhäuser, 2002. p. 167–219.

SCHEME LAB. *Linkedin Scheme Lab.*, 2023. Disponível em: <<https://www.linkedin.com/company/scheme-lab/about/>>. Acesso em: 10 dez. 2023

SELVARAJAH, D. et al. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) test for diagnosis of uncomplicated malaria in endemic areas: a meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Malaria Journal*, v. 19, n. 1, p. 211, 2020.

SELVARAJAN, R. et al. A rapid and sensitive lateral flow immunoassay (LFIA) test for the on-site detection of banana bract mosaic virus in banana plants. *Journal of Virological Methods*, v. 284, p. 113929, 2020.

SENSATA TECHNOLOGIES. Sensata Technologies Products. , 2023. Disponível em: https://www.sensata.com/search?search_api_fulltext=spreeta&op=Submit. Acesso em: 9 dez. 2023

SHAO, Y. et al. Development of multiplex loop-mediated isothermal amplification-RFLP (mLAMP-RFLP) to detect Salmonella spp. and Shigella spp. in milk. *International Journal of Food Microbiology*, v. 148, n. 2, p. 75–79, 2011.

SHARAFELDIN, M.; DAVIS, J. J. Point of Care Sensors for Infectious Pathogens. *Analytical Chemistry*, v. 93, n. 1, p. 184–197, 2021.

SHARMA, S. et al. Multiplex loop mediated isothermal amplification (m-LAMP) as a point of care technique for diagnosis of malaria. *Journal of Vector Borne Diseases*, v. 59, n. 1, p. 29, 2022.

SHEN, W. et al. Detection of Papaya leaf distortion mosaic virus by reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification. *Journal of Virological Methods*, v. 195, p. 174–179, 2014.

SILVA, S. J. R. DA et al. Development and Validation of Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) for Rapid Detection of ZIKV in Mosquito Samples from Brazil. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 4494, 2019.

SOARES-SANTOS, V.; PARDO, I.; FERRER, S. Direct and Rapid Detection and Quantification of *Oenococcus oeni* Cells in Wine by Cells-LAMP and Cells-qLAMP. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.

SONG, C. et al. Simple sensitive rapid detection of *Escherichia coli* O157:H7 in food samples by label-free immunofluorescence strip sensor. *Talanta*, v. 156–157, p. 42–47, 2016.

TAKAGI, H. et al. Sensitive, specific, and rapid detection of *Leishmania donovani* DNA by loop-mediated isothermal amplification. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 81, n. 4, p. 578–582, 2009.

TECHNAVIO. Point of Care (POC) Diagnostics Market Analysis: US, Canada, China, Germany, UK - Size and Forecast 2023-2027. Disponível em: <https://www.technavio.com/report/point-of-care-diagnostics-market-industry-analysis>. Acesso em: 25 nov. 2023.

THEKISOE, O. M. M. et al. Species-specific loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for diagnosis of trypanosomosis. *Acta Tropica*, v. 102, n. 3, p. 182–189, 2007.

TOMLINSON, JA.; DICKINSON, MJ.; DICKINSON, N. Rapid detection of *Phytophthora ramorum* and *P. kernoviae* by two-minute DNA extraction followed by isothermal amplification and amplicon detection by generic lateral flow device. *Phytopathology*, v. 100, n. 2, 2010.

UCHIBORI-ASANO, M. et al. Development of allele-specific loop-mediated isothermal amplification (AS-LAMP) to detect the tebufenozide-resistant allele in the smaller tea tortrix, *Adoxophyes honmai* (Lepidoptera: Tortricidae). *Applied Entomology and Zoology*, v. 57, n. 1, p. 93–99, 2022.

VAN DIJK, N. J. et al. Laboratory evaluation of the miniature direct-on-blood PCR nucleic acid lateral flow immunoassay (mini-dbPCR-NALFIA), a simplified molecular diagnostic test for *Plasmodium*. *Malaria Journal*, v. 22, n. 1, p. 98, 2023.

VELEZ, A. Investigadores desenvolvem biossensor para medir vitaminas. Disponível em:

<<https://pt.euronews.com/my-europe/2022/08/01/investigadores-desenvolvem-biossensor-para-medir-vitaminas>>. Acesso em: 27 nov. 2023.

VERDÚ, J. M. et al. Rapid Point-of-Care NT-proBNP Optimal Cut-off Point for Heart Failure Diagnosis in Primary Care. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, v. 65, n. 7, p. 613–619, 2012.

VERHEIJEN, R. Immunological Strip Tests. Em: SCHALKHAMMER, T. G. M. (Ed.). *Analytical Biotechnology. Methods and Tools in Biosciences and Medicine*. Basel: Birkhäuser, 2002. p. 134–166.

VICHAIBUN, V.; KANCHANAPHUM, P. Quantitative LAMP and PCR Detection of *Salmonella* in Chicken Samples Collected from Local Markets around Pathum Thani Province, Thailand. *International Journal of Food Science*, v. 2020, p. e8833173, 2020.

VINCENT, M.; XU, Y.; KONG, H. Helicase-dependent isothermal DNA amplification. *EMBO reports*, v. 5, n. 8, p. 795–800, 2004.

WAKEHAM, A. J.; KEANE, G.; KENNEDY, R. Field Evaluation of a Competitive Lateral-Flow Assay for Detection of *Alternaria brassicae* in Vegetable Brassica Crops. *Plant Disease*, v. 100, n. 9, p. 1831–1839, 2016.

WANG, D. et al. Development of a real-time loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay and visual LAMP assay for detection of African swine fever virus (ASFV). *Journal of Virological Methods*, v. 276, p. 113775, 2020.

WANG, Q. W.; ZHANG, C. Q. q-LAMP Assays for the Detection of *Botryosphaeria dothidea* Causing Chinese Hickory Canker in Trunk, Water, and Air Samples. *Plant Disease*, v. 103, n. 12, p. 3142–3149, 2019.

WEI, S. et al. Development of a single-tube nested PCR-lateral flow biosensor assay for rapid and accurate detection of *Alternaria panax* Whetz. *PLOS ONE*, v. 13, n. 11, 2018.

WONG, R.; TSE, H. *Lateral Flow Immunoassay*. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2008.

WU, K.-H. et al. Colloidal silver-based lateral flow immunoassay for detection of profenofos pesticide residue in vegetables. *RSC Advances*, v. 12, n. 21, p. 13035–13044, 2022.

WU, R. et al. Rapid Detection of Hepatitis A Virus in Foods Using a Bioluminescent Assay in Real-Time (BART) and Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) Technology. *Food and Environmental Virology*, v. 15, n. 2, p. 144–157, 2023.

XAVIER, H. T. et al. Correlação clínica entre a metodologia Point-of-care testing e o diagnóstico laboratorial tradicional na dosagem do perfil lipídico de pacientes atendidos em consultórios médicos. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 52, p. 387–390, 2016.

XU, C.; LUO, H.; ZHANG, Y. Development of multiplex loop-mediated isothermal amplification for three foodborne pathogens. *Food Science and Technology*, v. 40, p. 205–210, 2019.

XU, H. et al. An ultraportable and versatile point-of-care DNA testing platform. *Science advances*, v. 6, n. 17, 2020.

YILMAZ, S.; ADKINS, S.; BATUMAN, O. Field-Portable, Rapid, and Low-Cost RT-LAMP Assay for the Detection of Tomato Chlorotic Spot Virus. *Phytopathology*®, v. 113, n. 3, p. 567–576, 2023.

YONGKIETTRAKUL, S. et al. Validation of PfSNP-LAMP-Lateral Flow Dipstick for Detection of Single Nucleotide Polymorphism Associated with Pyrimethamine Resistance in *Plasmodium falciparum*. *Diagnostics*, v. 10, n. 11, p. 948, 2020.

YOSHIDA, N. et al. Simple differentiation method of mumps Hoshino vaccine strain from wild strains by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). *Vaccine*, v. 25, n. 7, p. 1281–1286, 2007.

YOSHIKAWA, A. A. G. Desenvolvimento de um kit de diagnóstico molecular Point-of-care para COVID-19. 2022.

YU, J. et al. Rapid and equipment-free detection of *Phytophthora capsici* using lateral flow strip-based recombinase polymerase amplification assay. *Letters in Applied Microbiology*, v. 69, n. 1, p. 64–70, 2019.

ZATTI, M. D. S. MÉTODOS DE AMPLIFICAÇÃO ISOTÉRMICA E ALGUMAS APLICAÇÕES. 2016.

ZENG, H. et al. Fluorescein Isothiocyanate Labeling Antigen-Based Immunoassay Strip for Rapid Detection of *Acidovorax citrulli*. *Plant Disease*, v. 102, n. 3, p. 527–532, 2018.

ZHANG, J. et al. Deep sequencing of banana bract mosaic virus from flowering ginger (*Alpinia purpurata*) and development of an immunocapture RT-LAMP detection assay. *Archives of Virology*, v. 161, n. 7, p. 1783–1795, 2016.

ZHANG, Y. et al. Quantitative Loop-Mediated Isothermal Amplification Detection of *Ustilaginoidea virens* Causing Rice False Smut. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 12, p. 10388, 2023.

ZHAO, K.; LIU, Y.; WANG, X. Reverse transcription loop-mediated isothermal amplification of DNA for detection of Barley yellow dwarf viruses in China. *Journal of Virological Methods*, v. 169, n. 1, p. 211–214, 2010.

ZHAO, Y. et al. Isothermal Amplification of Nucleic Acids. *Chemical Reviews*, v. 115, n. 22, p. 12491–12545, 2015.

ZOU, X. et al. Development and evaluation of an isothermal recombinase polymerase amplification–lateral flow assay for rapid detection of strawberry vein banding virus in the field. *Crop Protection*, v. 158, p. 105994, 2022.