

DIAGNÓSTICO DE SARS-COV-2 DE BAIXO CUSTO, A PARTIR DE AMOSTRAS DE SALIVA OBTIDAS POR AUTO-COLETA E UTILIZAÇÃO DE REAGENTES PREPARADOS IN HOUSE

I Simpósio de Microbiologia de Rondônia: Saúde, Ambiente e Inovação., 1^a edição, de 23/03/2021 a 25/03/2021
ISBN dos Anais: 978-65-86861-91-4

OLIVEIRA; LUANA PRADO ROLIM¹; CABRAL; ALINE DINIZ²; DURAN; ADRIANA FELICIANO³; SANTANA; CARLA MOREIRA⁴; REIS; BEATRIZ DA COSTA AGUIAR ALVES⁵; VEIGA; GLAUCIA RAQUEL LUCIANO⁶; COSTA; RENATA TORRES⁷; ALMEIDA; FERNANDA NASCIMENTO⁸; FONSECA; FERNANDO LUIZ AFFONSO⁹; SPERANÇA; MÁRCIA APARECIDA¹⁰

RESUMO

Introdução. O método de detecção de SARS-CoV-2 recomendado pela Organização Mundial da Saúde consiste na amplificação de fragmentos do genoma viral por transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT/PCR) a partir de secreções oro-nasofaríngeas. O método utilizado é invasivo, desconfortável para o paciente e, oferece risco de contaminação ao responsável pela coleta. Os métodos de extração de ácidos nucléicos e os kits comerciais para teste de qRT/PCR apresentam custo elevado e em períodos de alta demanda, podem faltar no mercado. Além disso, todo o procedimento deve ser realizado com estrutura laboratorial de biossegurança de nível 3, disponível em poucos laboratórios de análises clínicas que prestam serviço ao SUS. Objetivos. Desenvolver técnica de auto coleta de saliva em sistema que permita a inativação de partículas virais infecciosas para realização de diagnóstico molecular utilizando reagentes preparados in house em laboratórios de análises clínicas com infraestrutura básica de nível 2 de biossegurança. Métodos. Foram avaliadas 111 amostras de pacientes que coletaram secreção oro-nasofaríngea e saliva utilizando o protocolo de auto-coleta. O diagnóstico das secreções oro-nasofaríngeas foi realizado com kit de detecção de SARS-CoV-2 da GeneFinder™ como parte da rotina do laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina do ABC. O diagnóstico de SARS-CoV-2 a partir da saliva foi realizado com método clássico de extração de RNA com solução tipo Trizol® preparada no laboratório. A coleta de saliva foi realizada pelo indivíduo utilizando uma luva plástica para colocar e retirar uma bolinha de algodão estéril da boca. A bolinha foi adicionada a tubo de coleta de sangue a vácuo sem aditivo para transporte, que foi embrulhado em lenço umedecido com isopropanol a 70% e enviado ao laboratório em envelope lacrado e identificado. No laboratório, ao tubo contendo algodão com saliva adiciona-se 1mL da solução tipo Trizol®, com uma seringa, seguindo protocolo clássico de extração de RNA. A reação de RT-PCR é realizada em duas etapas. Inicialmente o cDNA é sintetizado a partir de 8,5 uL de 40 uL totais da solução de RNA utilizando a transcriptase reversa Script® da Celco e oligonucleotídeos randômicos (ThermoFischer Invitrogen) segundo instruções do fornecedor. A qPCR é realizada a partir de 2 uL do cDNA, com reagente TaqMan da Promega®, acrescido de oligonucleotídeos e sonda para os marcadores N1 e N2 de SARS-CoV2 e RnaseP humana recomendados pelo CDC e sintetizados pela empresa brasileira Genone®. As reações de qPCR foram realizadas em equipamento CFX da Bio-Rad® em um ciclo de 950C 3 min/45 ciclos de 950C 3 segundos e 550C 30 segundos. Resultados. Das 111 amostras, 4 apresentaram resultados discordantes. Três foram positivas para SARS-CoV-2 exclusivamente na coleta de secreção oro-nasofaríngea, enquanto uma amostra foi positiva apenas na saliva, sendo confirmada como verdadeiro positivo em recoleta de secreção oro-nasofaríngea. Conclusão. O método descrito possui alta acurácia, baixo custo e pode ser empregado em laboratório de análises clínicas com infraestrutura básica e nível 2 de biossegurança, os quais podem contribuir para realização de diagnóstico em massa de SARS-CoV-2.

PALAVRAS-CHAVE: Auto coleta de saliva, Diagnóstico molecular, SARS-CoV-2.

¹ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, luana.rolim@ufabc.edu.br

² Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, alinedica@gmail.com

³ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, felicianodurani@gmail.com

⁴ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, carla.msantana96@gmail.com

⁵ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, bcaalves@uol.com.br

⁶ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, grveiga@gmail.com

⁷ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, renata.torres@hotmail.com

⁸ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro Engenharia e Ciências Sociais Aplicadas, fernanda.almeida@ufabc.edu.br

⁹ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, profferonseca@gmail.com

¹⁰ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, marcia.speranca@ufabc.edu.br

¹ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, luana.rolim@ufabc.edu.br

² Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, alinedica@gmail.com

³ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, felicianodurani@gmail.com

⁴ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, carla.msantana96@gmail.com

⁵ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, bcaalves@uol.com.br

⁶ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, griveiga@gmail.com

⁷ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, renata.torres@hotmail.com

⁸ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro Engenharia e Ciências Sociais Aplicadas, fernanda.almeida@ufabc.edu.br

⁹ Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina ABC, profferfonseca@gmail.com

¹⁰ Universidade Federal do ABC – Campus São Bernardo do Campo – Centro de Ciências Naturais e Humanas, marcia.speranca@ufabc.edu.br