

PADRONIZAÇÃO DE UM TESTE MOLECULAR PARA O DIAGNÓSTICO DA COVID-19 NO PONTO DE ATENDIMENTO

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

FILHO; Edivá Basilio da Silva¹, COSTA; Alexandre Dias Tavares², DALL'ACQUA; Deusilene Souza Vieira³

RESUMO

INTRODUÇÃO: A COVID-19 é a doença causada pelo vírus da síndrome respiratória aguda grave de coronavírus 2 (SARS-CoV-2) que teve o primeiro caso confirmado em novembro de 2019 e em março de 2020 já era oficialmente considerado uma pandemia. Com essa rápida disseminação, rapidez no diagnóstico é uma peça-chave nas ações de enfrentamento à doença. Espera-se que o SARS-CoV-2 se torne um agente epidêmico sazonal regular no calendário dos vírus respiratórios. Assim, mesmo fora do período pandêmico, hospitais de referência e centros de saúde receberão pacientes suspeitos de COVID-19, necessitando de testes sensíveis, precisos e adequados para baixa demanda. Testes point of care (POC, ponto de atendimento em inglês) podem trazer vantagens como economia de materiais e insumos e diminuição no tempo de diagnóstico.

OBJETIVOS: O objetivo deste trabalho é padronizar um teste molecular POC para auxílio no diagnóstico da COVID-19 utilizando um kit NAT comercial e um equipamento de qPCR portátil chamado Q3-Plus. O resultado do equipamento portátil será comparado com o do equipamento de bancada quanto à sensibilidade, especificidade e rapidez no diagnóstico. Avaliaremos também métodos simplificados de extração do RNA viral das amostras de swab nasal.

MÉTODO: A população de estudo será composta por 50 pacientes do estado de Rondônia com amostras de secreção de nasofaringe coletadas entre março e dezembro de 2020 que possuem resultado para COVID-19 liberado pelo Lacen Rondônia através da técnica de RT-qPCR utilizando o equipamento ABI 7500 fast. A primeira etapa dos testes consistirá na padronização da reação de qPCR no equipamento Q3 plus utilizando uma multiplex que usa a região N1 (CDC) como alvo viral e o RNP como alvo endógeno. Nesta etapa será utilizado um plasmídeo. Após isto, as 50 amostras escolhidas terão seu RNA extraído novamente pelo kit comercial QIAmp viral RNA mini kit a fim de serem utilizadas nos testes de sensibilidade e especificidade, repetibilidade e reproduzibilidade. A segunda etapa dos testes será a padronização ou avaliação de um método de extração de RNA rápido e de baixo custo, sendo avaliado primeiramente no equipamento de bancada ABI 7500 e depois no Q3 Plus.

RESULTADOS: Usando como amostra uma curva de diluição do plasmídeo com 6 pontos, o Q3 plus foi capaz de detectar até 1,25 cópias do alvo viral na reação, exibindo eficiência de 121%. Os testes preliminares do protocolo de extração rápida mostraram uma perda de aproximadamente 2 Ct em relação à extração com kits comerciais, porém experimentos de otimização estão em curso.

CONCLUSÃO: O teste molecular point of care será importante para o diagnóstico rápido, sensível e específico da COVID-19 principalmente quando o vírus se tornar sazonal. O presente teste poderá ser realizado em unidades com baixa demanda, descentralizando o diagnóstico e diminuindo o tempo de espera pelo resultado, bem como o tempo de isolamento.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19, diagnóstico molecular, point of care, SARS-CoV-2.

¹ Fundação Oswaldo Cruz -Unidade Rondônia, ediva.basilio@gmail.com

² Fundação Oswaldo Cruz - Instituto Carlos Chagas -Curitiba., alexandre.costa@fiocruz.br

³ Fundação Oswaldo Cruz -Unidade Rondônia, deusilene.vieira@fiocruz.br