

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., 1ª edição, de 23/03/2021 a 25/03/2021
ISBN dos Anais: 978-65-86861-91-4

OLIVEIRA; LUANA PRADO ROLIM ¹, CABRAL; ALINE DINIZ ², DURAN; ADRIANA FELICIANO ³, SANTANA; CARLA MOREIRA ⁴, REIS; BEATRIZ DA COSTA AGUIAR ALVES ⁵, VEIGA; GLAUCIA RAQUEL LUCIANO ⁶, COSTA; RENATA TORRES ⁷, ALMEIDA; FERNANDA NASCIMENTO ⁸, FONSECA; FERNANDO LUIZ AFFONSO ⁹, SPERANÇA; MÁRCIA APARECIDA ¹⁰

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 nucleicos 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 Cellco 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

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, felicianoduran@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, grlveiga@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

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 95°C 3 min/45 ciclos de 95°C 3 segundos e 55°C 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 coleta 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, felicianoduran@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