MONITORAMENTO DA COVID-19 NA COMUNIDADE ACADÊMICA DA UTFPR *CAMPUS* DOIS VIZINHOS ATRAVÉS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR POR RT-qPCR

Amanda de Oliveira Sousa CARDOSO[1], Gabrielli Tuni ADAMI[1], João Pedro Maximino Gongora GODOI[1], Rúbia Santana ANDRADE[1], Edimara Salete de CARVALHO[1], Alex Batista TRENTIN[1], André Felipe BENDIX[1], Camila Luiza COMELLI[1], Douglas Fernando ZIMMER[1], Sandrieli GONÇALVES[1], Adriana Beatríz Rodríguez ORTÍZ[1], Isabela Pierozan PALUDO[1], Naiana Cristine GABIATTI[1], Flavia Regina de Oliveira BARROS[1], Juliana Morini Küpper Cardoso PERSEGUINI[1], Deborah Catharine de Assis LEITE[1], Simone Neumann WENDT[1], Betty Cristiane KUHN[1], Nédia de Castilhos GHISI[1]

[1]Grupo de pesquisa em Biologia Molecular (BioMol)
Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Dois Vizinhos
Dois Vizinhos – Paraná – Brasil

E-mail: biomol-dv@utfpr.edu.br

Resumo: *A pandemia da COVID-19 teve um impacto significativo em todo o mundo, resultando em milhares de pessoas infectadas e uma elevada taxa de morbidade. Os testes moleculares foram amplamente utilizados para o diagnóstico do SARS-CoV-2. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxas de pessoas infectadas com SARS-CoV-2 dentre os circulantes na UTFPR Campus Dois Vizinhos (DV) durante os meses de novembro de 2021 e maio de 2023. A metodologia envolveu a coleta quinzenal de amostras de secreções da nasofaringe, realizadas na UTFPR, seguida pela realização do teste de RT-qPCR utilizando o Kit Biomol One Step/Covid-19. Durante o período de novembro de 2021 até maio de 2023, foram coletadas um total de 1850 amostras. Foi observado um aumento no número de casos positivos em janeiro de 2022, o que pode estar relacionado à disseminação da nova variante Ômicron da COVID-19. No entanto, no período de janeiro a maio de 2023, não foram detectados casos positivos. A pandemia da COVID-19 destacou a importância da ciência em todos os aspectos da sociedade. As universidades, como centros fundamentais de desenvolvimento e disseminação do conhecimento científico, desempenharam um papel essencial no monitoramento da progressão da doença, e na conscientização da comunidade durante esse período desafiador.*

Palavras-chave: *SARS-CoV-2; Coronavírus; Assintomáticos; Pandemia.*

INTRODUÇÃO

O SARS-CoV-2 foi reportado inicialmente em meados de dezembro de 2019, em Wuhan, na China. Trata-se de um vírus RNA envelopado, agente causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), que infectou milhões de pessoas ao redor do mundo (DA SILVA, S. J. R. *et al*., 2022). O vírus se espalha pelo trato respiratório principalmente por intermédio de gotículas salivares, secreções respiratórias e contato direto com alguém contaminado (KUMAR *et al*., 2021).

Os testes moleculares, como o RT-qPCR, são amplamente utilizados no diagnóstico da COVID-19 devido à sua alta especificidade e capacidade de fornecer resultados rápidos na detecção do RNA do SARS-CoV-2 (PASCARELLA; TANG, 2020).

Este estudo apresenta relevância pela sua essência emergente por amplas discussões acerca da maior crise sanitária vivenciada pela sociedade contemporânea, que interfere diretamente em todos estratos sociais. A detecção ágil do vírus assume um papel de vital importância no tratamento e controle da doença. Neste contexto, visando o avanço e o bem-estar da população em geral, o propósito deste projeto foi a realização de amostragem para o monitoramento da COVID-19 através do diagnóstico molecular para estudantes, funcionários e comunidade externa, ao mesmo tempo em que promove a capacitação de profissionais como medida preventiva para enfrentar a pandemia.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Os vírus pertencentes à família *Coronaviridae* têm a capacidade de infectar principalmente aves e mamíferos. Além disso, foi constatado que esses vírus podem também infectar células humanas, causando infecções no sistema respiratório, tanto no trato respiratório superior quanto no inferior (ZHU *et al*., 2020). Em alguns casos, os sintomas podem se manifestar como leves problemas respiratórios, semelhantes a um resfriado comum. No entanto, essas infecções podem progredir para manifestações mais graves, como bronquite, pneumonia e síndrome respiratória aguda grave. Em situações mais críticas, a infecção pode levar ao óbito (SCHOEMAN; FIELDING, 2019).

No início da pandemia de COVID-19, o diagnóstico da doença era desafiador devido à diversidade de sintomas que poderiam ser facilmente confundidos com outras enfermidades (KARIMI *et al*., 2021). Além disso, uma das principais preocupações relacionadas à

COVID-19 é a presença de indivíduos infectados que permanecem assintomáticos, uma vez que eles têm o potencial para transmitir o vírus durante todo o período infeccioso, uma vez que ainda não há uma explicação clara para essa condição (FERREIRA NETTO; CORRÊA, 2020).

Os testes moleculares, como o RT-qPCR (reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase), são considerados o padrão ouro para o diagnóstico direto do vírus SARS-CoV-2. Esses testes envolvem a detecção do RNA viral por meio da transcrição reversa quantitativa da reação em cadeia da polimerase em tempo real. Eles são altamente sensíveis, específicos e rápidos na detecção do vírus, superando outras metodologias como a sorologia (KUMAR *et al*., 2020; LEE *et al*., 2021).

O RT-qPCR apresenta um desempenho otimizado pois é capaz de identificar casos positivos mesmo em fases iniciais da contaminação, incluindo o período de incubação e após o desaparecimento dos sintomas. Isso torna o teste molecular uma ferramenta valiosa no controle da propagação da COVID-19, permitindo a identificação precoce de casos e o isolamento de indivíduos infectados (SILVA *et al*., 2020).

METODOLOGIA

Coletas na UTFPR

O projeto foi submetido e aprovado pelo conselho de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) com número de parecer 5.100.638. Com a implementação do Laboratório Multiusuário de Biologia Molecular e Análises Biológicas (BioMol) na UTFPR, no auge da pandemia, em 12 de novembro de 2021 se deu o início das coletas quinzenais de secreções de nasofaringe em alunos, servidores e da comunidade externa na Universidade Tecnológica Federal do Paraná *Campus* Dois Vizinhos (DV), contendo o número mínimo pretendido de 50 amostras por coleta, com a vantagem adicional de que o teste poderá ser repetido, se necessário.

A equipe treinada foi responsável pela abordagem dos indivíduos nas dependências da universidade para explicação dos termos da pesquisa, em seguida, eram coletadas informações previamente aprovadas pelo conselho de ética e realizada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Após o preenchimento dos formulários, a coleta do material biológico foi realizada por um profissional previamente treinado e paramentado com Equipamentos de Proteção Individual (EPI).

Rotina Laboratorial

A extração do material genético (RNA total) foi realizada a partir da inserção de 20 µL da amostra com 20 µL de proteinase K (200 mg), em seguida, incubadas em banho seco por 5 minutos a 95 °C.

Os testes de RT-qPCR foram realizados em *pools*, sendo inseridos cerca de cinco amostras por poço. A amplificação ocorreu a partir do Kit Biomol OneStep/Covid-19 (IBMP), onde foi possível identificar o agente etiológico através dos alvos da região conservada ORF1ab, região da proteína do nucleocapsídeo N e gene endógeno humano como controle interno. Os sinais de fluorescência foram captados pelo termociclador CFX96™ (Biorad) nos canais FAM (ORF1ab), HEX/VIC (N gene), ROX (controle interno) e analisados com o software CFX Maestro Software™ (BioRad) de acordo com as recomendações do fabricante (IBMP, 2021).

Em todos os testes foram utilizados Controle Positivo (CP), Controle Negativo (CN), Controle Sem Amostra (NTC), Amostra Humana Sabidamente Negativa (HSC) e Amostra Humana Sabidamente Positiva (CP+). Os resultados foram interpretados como positivos ou negativos para presença do agente etiológico SARS-CoV-2. Caso algum pool apresentasse resultado positivo as cincos amostras eram testadas separadamente para identificação dos casos positivos. Após a amplificação, todas amostras brutas foram armazenadas em ultrafreezer a -80 °C.

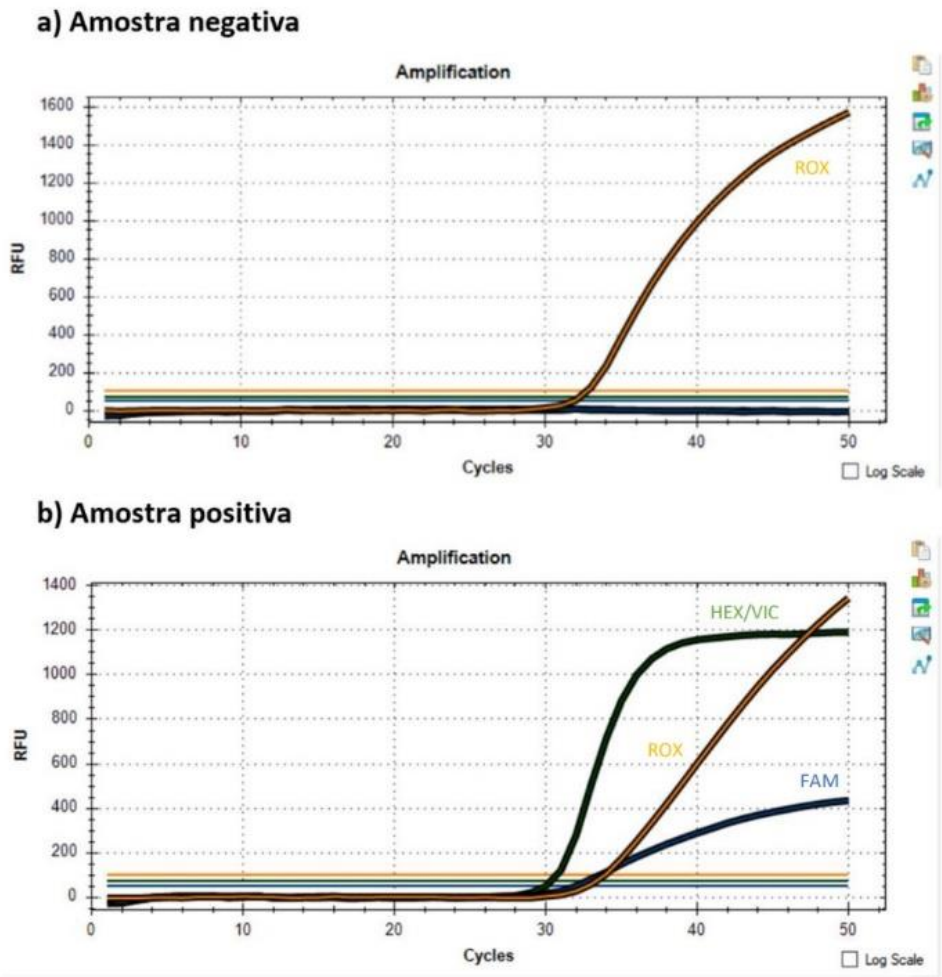
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados das coletas realizadas na UTFPR *Campus* Dois Vizinhos foram obtidos no período de novembro de 2021 até maio de 2023 totalizando 1850 amostras, vale ressaltar que os meses de janeiro (2022/2023) e fevereiro (2023) não obtiveram o número mínimo de cinquenta amostras, tendo em vista, as férias de alunos e servidores, resultando em um baixo nível de circulação de pessoas na universidade.

Após o processamento das amostras, utilizando-se o protocolo pré-estabelecido pelo fabricante, foi verificado à amplificação dos alvos nos canais FAM (ORF1ab), HEX/VIC (N

gene) e ROX (controle interno), sendo consideradas negativas as amostras que amplificaram somente o controle interno no canal ROX (Figura 1a) e positivas as amostras que amplificaram o ROX (controle interno), FAM (ORF1ab) e/ou HEX/VIC (N gene) conforme a Figura 1b (IBMP, 2021).

Figura 1 – Gráficos gerados pelo CFX Maestro Software (BioRad)™.

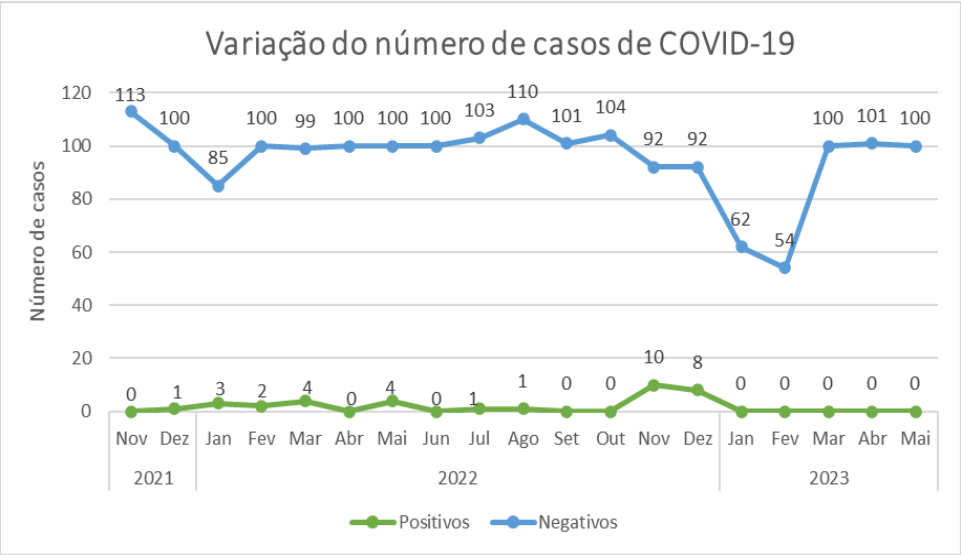


Fonte: Autoria própria (2023)

Os resultados positivos podem ser observados na Figura 2, ao qual houve um aumento notável no número de casos positivos em momentos específicos da pandemia. O aumento do número de casos positivos em janeiro (2022) pode estar relacionado com o contágio pela nova variante do COVID-19, Ômicron, ao qual foi detectada no final de novembro de 2021 (CHENCHULA, S. *et al*., 2022). Os casos positivos se mantiveram na média de três casos até março (2022). Com retorno das aulas presenciais em março de 2022, o uso de

máscaras era obrigatório nas dependências da universidade, refletindo no resultado de abril (2022) com nenhum caso positivo.

Figura 2 - Variação do número de casos positivos e negativos de novembro (2021) até maio (2023).



Fonte: Autoria própria (2023)

Ao final de março (2022) a reitoria da UTFPR desobrigou o uso de máscaras nas dependências da universidade, ou seja, o uso passou a ser facultativo. Os resultados apresentados em maio (2022) com quatro casos positivos podem estar relacionados com essa medida tomada pela instituição. Porém, até agosto, os casos se mantiveram entre 0 e 1, voltando a crescer nos meses de novembro e dezembro de 2022 com 10 e 8 casos positivos respectivamente.

No ano de 2023 não foi detectado nenhum caso positivo no período de janeiro a maio. Tal fato está relacionado com o programa de vacinação, pois segundo os dados recolhidos pelo TCLE cerca de 61,24 % estão vacinados com três ou mais doses, 37,40 % com duas doses, 1,14 % com uma dose e 0,22 % não se vacinou.

Vale ressaltar que no estudo conduzido por Vasconcelos *et al.* (2023), foram encontradas evidências de uma diminuição nos casos positivos e mortes em Dois Vizinhos, à medida que a cobertura vacinal aumentava ao longo de um ano após a administração da primeira dose da vacina em janeiro de 2021. Os resultados indicaram uma correlação entre o aumento

da cobertura vacinal e a redução dos casos e mortes na cidade, em particular, após a vacinação de 15 mil habitantes, o que representa aproximadamente 35,21 % da população total de 41.124 habitantes. Essas descobertas ressaltam a importância da vacinação em massa como uma estratégia eficaz para controlar a propagação de doenças infecciosas e mitigar seus impactos na saúde pública. No entanto, é fundamental considerar que esses resultados se referem especificamente à cidade de Dois Vizinhos e não podem ser generalizados para outras regiões sem levar em conta as características locais.

Por fim, as pessoas com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2 receberam através de e-mail ou aplicativo de mensagens *whatsapp* o laudo confirmando o resultado do diagnóstico, adicionalmente ao laudo, foram encaminhadas orientações de isolamento social e encaminhamento para o posto de saúde mais próximo de sua residência.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A pandemia de COVID-19 foi uma das mais significativas crises sanitárias da história recente, provocando uma comoção global devido à enorme quantidade de casos e óbitos. Além disso, essa crise teve um impacto profundo na economia e na sociedade. Através dos resultados obtidos é possível concluir que não houve um contágio massivo na universidade no período de novembro de 2021 a maio de 2023. Pode-se concluir também que o projeto voltado a comunidade interna e externa à UTFPR destaca o prestígio da universidade em desenvolver alternativas, soluções e prestar assistência em momentos críticos de pandemia, fomentando a interação entre ensino, pesquisa e extensão ao formar profissionais capacitados.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório Multiusuário de Análises Biológicas e Biologia Molecular (BioMol) da UTFPR - Dois Vizinhos com apoio do Rotary Club de Dois Vizinhos e da Prefeitura Municipal de Dois Vizinhos.

REFERÊNCIAS

CHENCHULA, S. *et al*. Current evidence on efficacy of COVID-19 booster dose vaccination against the Omicron variant: A systematic review. *Journal of Medical Virology*, v. 94, n. 7, p. 2969-2976, 2022.

DA SILVA, S. J. R. *et al*. Two Years into the COVID-19 Pandemic: Lessons Learned. *ACS infectious diseases*, v. 8, n. 9, 2022.

FERREIRA NETTO, R. G; CORRÊA, J. W. N. Epidemiologia do surto de doença por coronavírus (COVID-19). *Revista Desafios*, v. 7, n. supl., p. 18-25, 2020.

IBMP - INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR DO PARANÁ. Kit Biomol OneStep/COVID-19. Curitiba, 2021.

KARIMI, F. *et al*. Clinical and laboratory findings in COVID-19 adult hospitalized patients from Alborz province/Iran: comparison of rRT-PCR positive and negative. *BMC Infectious Diseases*, v. 21, n. 1, p. 1-8, 2021.

KUMAR, A. *et al*. COVID-19 Pandemic: Mechanism, Diagnosis and Treatment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 96, p. 299-308, 2020.

KUMAR, A. *et al*. Wuhan to World: The COVID-19 Pandemic. *Front Cell Infect Microbiol*. v. 11: 596201, 2021.

LEE, C. J. *et al*. Diagnostic evaluation of qRT-PCR-based kit and dPCR-based kit for COVID-19. *Genes Genomics*, v. 43, n. 11, p. 1277-1288, 2021.

PASCARELLA, G. *et al*. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *Journal of internal medicine*, v. 288, n. 2, p. 192-206, 2020.

SCHOEMAN, D.; FIELDING, B. C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. *Virology journal*, v. 16, n. 1, p. 1-22, 2019.

SILVA, S. J. R. *et al*. Clinical and laboratory diagnosis of SARS-CoV-2, the virus causing COVID-19. *ACS infectious diseases*, v. 6, n. 9, p. 2319-2336, 2020.

TANG, Y. *et al*. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *Journal of clinical microbiology*, v. 58, n. 6, 2020.

VASCONCELOS, M. W. *et al*. Relationship between SARS-CoV-2 vaccination and cases, program breakthrough cases, and deaths in Dois Vizinhos, Paraná, Brazil. *Journal of Medical Virology*, v. 95, n. 6, 2023.

ZHU, N. *et al*. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *The New England Journal of Medicine*. v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020.