

A IMPORTÂNCIA DA TÉCNICA LABORATORIAL PCR NA DETECÇÃO DO VÍRUS DO DENGUE – UMA REVISÃO

Heloísa Pyrich Cavalheiro – Acadêmica de Medicina FPP
helopyrich@gmail.com

Lara Twerdochlib Navarro – Acadêmica de Medicina FPP
Adriana Lacerda Twerdochlib – Docente FPP

INTRODUÇÃO: O dengue é considerado, atualmente, a infecção sistêmica mais comum por arbovírus em seres humanos nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, sendo que o mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) é o principal vetor do vírus do dengue nas Américas. Essa infecção apresenta um padrão endemo-epidêmico com surtos a cada 3 a 5 anos e teve sua incidência aumentada nas últimas décadas devido ao processo de desmatamento e aquecimento global, o que gerou um crescimento exponencial no número de casos da doença. Desse modo, para detecção do vírus e diagnóstico da dengue, várias técnicas moleculares e sorológicas estão sendo utilizadas. Dentre elas, a que mais se destaca, principalmente no cenário atual, é a detecção por PCR.

PERCURSO TEÓRICO: A infecção pelo vírus do dengue representa a arbovirose de maior problema para a saúde pública nas regiões tropicais e subtropicais, causando por ano 96 milhões de casos de infecção mundialmente. Os arbovírus são transmitidos por artrópodes (Arthropod-borne vírus), desta forma, o seu ciclo replicativo e a sua veiculação ocorrem através de insetos, e sua transmissão se dá pela picada do vetor. Os arbovírus que causam doenças em humanos são divididos em 5 famílias, entre elas a Flaviviridae a qual pertence o vírus do dengue. Os flavivírus, além do dengue, são causadores de encefalites, meningites e doença febril. São RNA vírus com uma fita simples de polaridade positiva que contém, aproximadamente, 11 kb e replicam-se no citoplasma do hospedeiro. O agente etiológico do dengue pertence ao gênero Flavivirus com 4 sorotipos distintos (DENV-1 a 4). Cada um desses sorotipos possui vários genótipos difundidos na mesma região ou em diversas partes do mundo. O mosquito *Aedes aegypti* é o principal vetor do vírus do dengue nas Américas, embora mosquitos da espécie *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) também apresentam competência vetorial para a arbovirose em outras regiões do planeta. Como muitos pacientes infectados por DENV não apresentam sintomas clínicos ou são inespecíficos ou mesmo semelhantes aos de outras arboviroses, existe a necessidade de confirmar a doença através de testes diagnósticos. Nesse âmbito, o Ministério da Saúde recomenda que todos os pacientes com suspeita de dengue sejam notificados e tenham uma amostra de sangue coletada para sorotipagem realizada via reação em cadeia da polimerase (PCR). Esta técnica consiste na detecção e amplificação de regiões específicas de ácidos nucleicos (DNA ou cDNA), oriundo de materiais como sangue, líquidos corpóreos ou biópsia de tecidos. A PCR envolve ciclos sequenciais compostos por três etapas (desnaturação, anelamento e extensão) e seu desenvolvimento é dependente dos seguintes reagentes e aparelho: amostra, primers, dNTPs, Taq DNA polimerase (DNA polimerase termoestável), MgCl₂, tampão da PCR e de um termociclador. Esse método, além de auxiliar na diferenciação do DENV de outros Flavivirus que circulam nas Américas, permite o monitoramento epidemiológico por meio da sorotipagem do vírus. Nesse contexto, especificamente para o vírus do dengue utiliza-se a RT-PCR (*real time* PCR), que fornece resultados quantitativos, o que permite que os resultados sejam mais precisos e rápidos em comparação com a PCR convencional (resultados qualitativos). A PCR em tempo real é baseada na

detecção e quantificação do sinal fluorescente de diversos *amplicons* (pedaço de DNA ou RNA). Para a detecção utiliza-se um termociclador com sistema óptico e de um computador com um software para obtenção de dados e análise da reação. Ademais, a técnica é formada por dois ciclos de reação: a transcrição reversa e a amplificação por PCR. Primeiramente, o RNA é transcrito em cDNA, através da enzima transcriptase reversa. Este cDNA é amplificado por PCR usando primers específicos. O produto amplificado pode ser visualizado em gel de agarose, com bandas de diferentes tamanhos, dependendo do sorotipo do DENV em questão. Este, constitui um método de rotina para isolar rapidamente sequências específicas a partir de uma mistura complexa de sequências genômicas ou de cDNAs. Amplificando, assim, diminutas quantidades de ácido nucléico, mesmo em vírus inativos.

CONCLUSÃO: O monitoramento laboratorial por meio da técnica RT-PCR é indispensável para o controle da dengue. A partir dele, é possível detectar a presença ou ausência do vírus e determinar os sorotipos circulantes na época e região, facilitando o diagnóstico precoce. Isso propicia aos órgãos governamentais dados epidemiológicos que podem auxiliar na tomada de decisões no que diz respeito ao controle dos vetores a fim de combater a dengue e minimizar a ocorrência de surtos.

PALAVRAS-CHAVE: Dengue; Detecção; PCR.

REFERÊNCIAS:

VALONES, M. A.A.; GUIMARÃES, R. L.; BRANDÃO, L. A. C.; SOUZA, P. R. E.; CARVALHO, A. A. T.; CROVELA, S. Principles and applications of polymerase chain reaction in medical diagnostic fields: a review. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 1–11, 2009.

ARYA, M., SHERGIL, I.; WILLIAMSON, M.; GOMMERSALL, L. Basic principles of real-time quantitative PCR. **Expert Rev. Mol.Diagn**, v.1, p. 209–219, 2005.

BHATT, S.; GETHING, P.W.; BRADY, O.J.; MESSINA, J.P.; FARLOW, A.W.; MOYES, C.L.; DRAKE, J.M.; BROWNSTEIN, J.S.; HOEN, A.G.; SANKOH, O.; MYERS, M.F.; GEORGE, D.B., JAENISCH, T.; WINT, G.R.; SIMMONS, C.P.; SCOTT, T.W.; FARRAR, J.J.; HAY, S.I. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, p. 504 – 507, abr. 2013.

SILVA, A. M.; NETO, L. M. R. **Biologia molecular**. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2015.

COSTA, D. S; ARAÚJO, D. D.; SANTOS, J. C.; PEREIRA, H. S.; ANDRADE, G.L.; SALES, A. C. S.; ALVES, N. S.; RODRIGUES, A. I.; The importance of using molecular techniques in laboratory diagnosis of Dengue virus: a review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 12, 2021.

DELLA BONA, A. C.; TWERDOCHLIB, A. L; NAVARRO-SILVA, M. A.; Detecção do vírus da dengue em populações naturais de mosquitos, **Biol. Mal. Salud Amb.**, v.51, n.2, 2011.

SALLES, T. S.; SÁ GUIMARÃES, T. E.; ALVARENGA, E. S. L.; RIBEIRO, V. G. History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1-12, 2018.