



DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO DE DOENÇAS USANDO BIOLOGIA MOLECULAR PARA FORTALECIMENTO DA ATENÇÃO BÁSICA

CLAUDIA DE CARVALHO BRASIL; EMANUELLY CLARA AMBROSIO DE LUCENA;
GUILHERME AUGUSTO FERREIRA GUEIROS; LUCAS AGUSTINNE MELO DE
GOES; JOSÉ CARLOS VILAR JUNIOR

RESUMO

O Conhecimento da biologia molecular na atividade médica é de suma importância nas estratégias de avaliação do paciente, contribuindo para o fortalecimento da atenção básica, ao passo que para que se chegue à uma hipótese diagnóstica é necessário que se passe por uma boa anamnese, exame físico e caso esses sejam escassos, submissão de exames complementares, entendendo-se a imprescindibilidade da biologia molecular em razão de que métodos provenientes dos estudos desse campo são utilizados em larga escala para diagnosticar doenças infecciosas e até mesmo neoplasias e síndromes. O objetivo deste trabalho é descrever as possibilidades de diagnóstico e monitoramento de doenças utilizando a biologia molecular e das técnicas utilizadas, no fortalecimento da atenção básica. Para alcançar o objetivo proposto, utilizou-se uma pesquisa bibliográfica, do tipo narrativa, onde buscou-se analisar e descrever o conhecimento disponível nas bases de dados: *Scientific Eletronic Library Online (SCIELO)*, *Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS)*, *National Library of Medicine (MEDLINE)* nos últimos 5 anos. Como resultados, pode-se citar que além de corroborar com o diagnóstico de doenças, tais métodos são utilizados no monitoramento e levantamento de dados acerca. A substantividade do uso das técnicas de biologia molecular contribui para a implementação de estratégias eficazes de controle de infecções, resultando em melhores cuidados com a saúde coletiva e redução dos impactos econômicos e sociais negativos associados a surtos endêmicos e epidêmicos.

Palavras-chave: Diagnóstico; Monitoramento; Biologia Molecular; Clínica; Atenção Básica

1 INTRODUÇÃO

A Biologia Molecular vem auxiliando o diagnóstico e atividade médica durante anos, através de técnicas advindas dessa ciência foi possível observar aspectos específicos do indivíduo, seja o estudo de proteínas específicas, fluídos ou mesmo traçando dados importantes da sua composição genética.

Neste sentido, muitas vezes atrelados aos exames complementares, estão presentes os métodos de diagnóstico por meio da biologia molecular, como por exemplo a reação em cadeia da polimerase (PCR) e outros mais.

Através também desses dados é possível que se obtenha um direcionamento para monitorar e acompanhar pacientes e não somente isso, estudar de forma profunda e direcionada a fisiopatologia de determinadas doenças e condições, o que fortalece, indiretamente, as políticas públicas voltadas a atenção básica.

Diante disso, torna-se imprescindível discutir acerca da importância clínica dessas técnicas e como sua aplicação corrobora não somente com a ciência, mas na saúde como todo.

Através da substantividade do tema, buscou-se então de forma geral analisa-lo e compreender aspectos gerais que envolvem desde o avanço da biologia molecular a técnicas

específicas de diagnóstico e monitoramento de doenças.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

De acordo com Lakatos e Marconi (2021, p. 44) “pesquisa é uma atividade realizada para a investigação de problemas teóricos ou práticos, empregando métodos científicos”, e que se justifica pela busca de respostas, utilizando procedimentos científicos já conhecidos e consagrados pela comunidade acadêmica-científica.

Esse projeto de pesquisa tem como abordagem inicial, quanto objetivo, uma abordagem exploratória, que de acordo com Gil (2017) é aquela atividade realizada que busca propor uma maior familiaridade com o problema, visando a construção de hipóteses.

Como procedimento técnico para subsidiar a temática e aumentar a familiaridade com o tema proposto, foi utilizado a técnica da pesquisa bibliográfica, sendo essa ação elaborada com base em material já publicado por meios escritos e eletrônicos buscando analisar e descrever o conhecimento disponível nos descritores em ciências da saúde, tais como: *Scientific Eletronic Library Online (SCIELO)*, Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), *National Library of Medicine (MEDLINE)* em suas publicações nos últimos 5 anos, utilizando como critério de inclusão as principais técnicas de biologia molecular para diagnosticar doenças infecciosas, neoplasias e síndromes, que são ferramentas de fortalecimento da atenção básica e se aproxima do objetivo proposto. Nesse sentido e conforme grifos de Fachin (2017) a pesquisa bibliográfica é essencial porque se assemelha a uma fonte inesgotável de informações, que auxilia na construção do conhecimento intelectual, na apresentação dos resultados preponderantes, nesse estudo principais biomarcadores da LLC terapias, contribuindo para o conhecimento em todas as formas do saber.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes moleculares desempenham um papel fundamental no controle de infecções, fornecendo uma ferramenta precisa e sensível para o diagnóstico e monitoramento dessas infecções. Através da detecção e identificação de ácidos nucleicos específicos, como o Ácido Desoxirribonucleico (DNA) e o Ácido Ribonucleico (RNA), os testes moleculares permitem a identificação precoce de patógenos causadores de infecções. Essa abordagem baseada em técnicas moleculares é fundamental em cenários epidemiológicos, os quais a rápida detecção e rastreamento de agentes infecciosos são cruciais para conter a propagação e implementar medidas de controle efetivas (Araujo, 2021).

Um exemplo notável do uso dos testes moleculares foi evidenciado durante a pandemia da COVID-19. Através da amplificação do material genético do vírus SARS-CoV-2, os testes de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (RT-qPCR) têm sido amplamente utilizados para diagnóstico e monitoramento da infecção. Esses testes moleculares permitem a detecção do material genético do vírus, mesmo em estágios iniciais da infecção, permitindo que medidas preventivas sejam tomadas para interromper a cadeia de transmissão (Bezerra et al., 2020).

Doravante, a aplicação dos métodos biomoleculares para diagnóstico de infecções tem se mostrado valiosa no acompanhamento da resistência antimicrobiana. Através da identificação de genes de resistência em bactérias, por exemplo, é possível direcionar estratégias de tratamento mais eficazes e prevenir o uso desnecessário de antibióticos, minimizando assim o desenvolvimento de resistência e o surgimento de superbactérias. Os testes moleculares também desempenham um papel crucial na vigilância epidemiológica, permitindo a identificação de surtos, a análise de padrões de disseminação e a determinação de rotas de transmissão. Essas informações são fundamentais para a implementação de medidas de saúde pública direcionadas, como quarentenas, isolamentos e campanhas de vacinação (Pavão et al., 2020).

Além disso, o monitoramento de infecções epidemiológicas por meio de testes

moleculares permite a detecção de patógenos emergentes ou reemergentes. Essa vigilância ativa ajuda a identificar rapidamente a introdução de novos patógenos em uma população e a avaliar o risco de disseminação. Isso é particularmente importante em um contexto global, onde infecções podem se espalhar rapidamente, como demonstrado pela pandemia de COVID-19 (Salvato, 2022).

Tais testes também desempenham um papel crucial no monitoramento de doenças endêmicas ou crônicas. O acompanhamento regular da presença de patógenos permite avaliar a eficácia de intervenções e medidas de controle, bem como identificar padrões de resistência antimicrobiana. Isso possibilita a implementação de estratégias de saúde pública direcionadas, como ações de prevenção e campanhas de vacinação.

3.1 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Diante da importância latente dos métodos biomoleculares no diagnóstico de doenças, é possível destacar técnicas que são comumente, destacando-se o Sequenciamento de DNA; Hibridização Molecular; Reação em Cadeia da Polimerase (PCR); Transcrição Reversa-PCR; Microarrays de DNA e por fim a técnica de marcação de DNA.

3.1.1 Hibridização Molecular

A hibridização molecular ou hibridização *in situ* também constitui uma das modalidades de diagnóstico e monitoramento usando biologia molecular, para Alberts et al. (2017) essa técnica permite observar diretamente momento e local o produto de RNA quando é expresso, além de se caracterizar como uma forma fácil e vantajosa ao passo que se baseia no princípio básico da hibridização de ácidos nucleicos.

Tal princípio consiste na mistura de ácidos nucleicos promovendo diferenciações genéticas.

Essa técnica permite a análise genética e morfológica das células, promovendo por exemplo diagnósticos de neoplasias bem como também de doenças infecciosas como papiloma vírus humano (HPV).

3.1.2 Reação em Cadeia da Polimerase

Mais comumente chamado de PCR sigla derivada do termo em inglês *Polymerase Chain Reaction* a reação em cadeia da polimerase consiste em uma técnica *in vitro* onde há imitação da técnica natural de replicação de DNA através da ação enzimática e de uso de primers, com intuito de se estudar um fragmento específico desse DNA através de múltiplas replicações deste e esse processo pode durar horas. (Seemayer, 1990).

Tal técnica permite que seja possível o sequenciamento de genoma de patógenos, auxiliando no diagnóstico mais preciso de doenças, bem como também no tratamento destas. O PCR é utilizado em larga escala no diagnóstico de doenças infecciosas como HIV, HPV e tuberculose, bem como na detecção de neoplasias como a mamária e até contribuindo na medicina forense com testes de paternidade e identificação genética.

Uma das fomentações do uso do PCR também se da quando o material genético disponível está em pouca quantidade tendo em vista sua característica de replicar a ação natural do DNA.

3.2 Transcrição Reversa-PCR

A reação em cadeia da polimerase (PCR) simula, em ambiente controlado, a capacidade natural de realizar a duplicação do DNA e pode ser realizada em grande proporção. Esse tipo de análise requer o conhecimento básico do DNA alvo do determinado organismo investigado, para assim conseguirem desenvolver primers que irão hibridizar-se com o sequenciamento alvo. Sendo que na maior parte das vezes quando se utiliza o PCR para detectar um agente viral, é

facilmente identificado que é necessário realizar a transcrição reversa antes de iniciar a amplificação, pois esse agente é composto por RNA ao invés de DNA, (Cavalcanti *et al*, 2008).

De acordo com Yang e Rothman (2004), a PCR que teve um avanço significativo é a PCR quantitativa em tempo real, a qual combina a amplificação e a detecção dos produtos amplificados em um único recipiente de reação. E esse avanço é de extrema valia para aplicações clínicas, pois elimina a etapa trabalhosa de pós amplificação, como a eletroforese em gel, necessário para detecção de amplicon, além de possibilitar a medição do produto ao mesmo tempo em que o DNA é sintetizado.

Ademais, vale ressaltar a importância da técnica de transcrição reversa-PCR para o diagnóstico da COVID-19, por ser uma tecnologia de detecção rápida, de alta sensibilidade (86%) e especificidade (96%). Todavia, sua aplicação é recomendada em situações de alta prevalência de infecção por coronavírus (Reis *et al*, 2020).

É reconhecido que os resultados da RT-PCR em tempo real, utilizando primers em diferentes genes, podem ser afetados pela variação nas sequências de RNA viral. Resultados falso-negativos podem ocorrer devido a mutações nas regiões alvo dos primers e sondas no genoma do SARS-CoV-2. Embora esse exame seja projetado com a maior precisão possível, baseado em regiões conservadas dos genomas virais, a variabilidade pode causar incompatibilidades entre os primers e sondas e as sequências alvo, resultando em uma diminuição do desempenho do ensaio e potenciais resultados falso-negativos. Logo, para sanar esse problema ocorre a amplificação de múltiplos genes alvo para serem usados e evitar resultados inválidos.

3.3 Microarrays de DNA

A tecnologia de microarray baseia-se na automação e robotização das técnicas clássicas de biologia molecular, como Southern e Northern blotting, utilizando a hibridização de ácidos nucleicos como fundamento. Sendo a principal vantagem dessa tecnologia em relação às técnicas clássicas é a capacidade de imobilizar milhares de sondas de DNA, permitindo a análise da presença, ausência ou expressão de milhares de genes, incluindo genomas inteiros, em um único experimento (Souto *et al*, 2003).

O microarranjo de DNA é usado no diagnóstico de câncer, sendo analisado amostras de referência para hibridização desses microarranjos que consistem de um pool de RNA total de 15 linhagens celulares de diversos tecidos epiteliais e mesenquimais, tumorais e normais. Então utilizam a estratégia de dye swap, onde cada amostra é hibridizada duas vezes e ocorre a troca de corantes. Logo após ocorre a leitura das imagens em um leitor a laser focal, sendo aí identificado os tipos de sarcomas existentes nas amostras (Simões, 2009).

Sendo assim, o uso de microarranjos, para diagnosticar tumores cancerígenos, permite analisar simultaneamente a expressão de diversos genes em uma única amostra, proporcionando assim uma visão geral do perfil genético do tumor. Ademais, é possível destacar que pode ser detectado um câncer precoce, aumentando a eficácia do tratamento e reduzindo os efeitos colaterais, já que essa tecnologia é altamente sensível e pode identificar as minuciosas mudanças na expressão gênica.

3.4 MONITORAMENTO ATRAVÉS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Além de diagnosticar, a biologia molecular permite o monitoramento de doenças corroborando então não só para prognóstico, mas também para que a partir de dados obtidos através do monitoramento, tanto o indivíduo acometido com alguma patologia, bem como o coletivo sejam beneficiados com terapêuticas específicas, utilização de métodos claros e eficazes, dentre outros benefícios em termos de saúde.

Diante disto, destacam-se algumas maneiras e exemplos de monitoramento de doenças através da biologia molecular, podendo ser citada a observação de taxa de mutação, as

características celulares provenientes de infecções ou alterações resultantes de doenças genéticas, e afins, corroborando para levantamento de dados precisos e de fomento do estudo epidemiológico.

3.4.1 Biomarcadores Moleculares

Biomarcadores moleculares são substâncias, estruturas ou processos mensuráveis que podem indicar um estado patológico ou uma resposta terapêutica. Na biologia molecular, os biomarcadores incluem DNA, RNA, proteínas e metabólitos que podem ser detectados e quantificados em tecidos, sangue ou outros fluidos corporais. Esses biomarcadores são fundamentais para o diagnóstico precoce, prognóstico e monitoramento de doenças, permitindo uma abordagem personalizada na medicina. Técnicas como PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), sequenciamento de próxima geração (NGS) e arrays de microRNA são utilizadas para identificar e quantificar esses biomarcadores, oferecendo uma visão detalhada sobre o estado de saúde do paciente e a progressão da doença (Costa-Pinheiro et al. 2015).

3.4.2 Monitoramento de Câncer

O monitoramento do câncer através de biologia molecular tem revolucionado a oncologia, permitindo a detecção precoce e o acompanhamento preciso da progressão tumoral e da resposta ao tratamento. Técnicas como a biópsia líquida, que analisa DNA tumoral circulante (ctDNA) no sangue, fornecem informações sobre mutações específicas, carga tumoral e resistência ao tratamento sem a necessidade de procedimentos invasivos. Além disso, a análise de expressão gênica e perfis epigenéticos pode identificar subtipos de câncer e prever a resposta a terapias específicas, contribuindo para a personalização do tratamento e melhorando os resultados clínicos (Feng; Yu e Kiviat, 2008).

3.4.3 Monitoramento de Doenças Infecciosas

As técnicas de biologia molecular são essenciais para o monitoramento de infecções virais, permitindo a detecção rápida e precisa de vírus em amostras clínicas. Métodos como PCR em tempo real (qPCR) e sequenciamento de genomas virais são utilizados para identificar a presença de vírus, quantificar a carga viral e detectar variantes genéticas. Esses dados são críticos para o diagnóstico precoce, monitoramento da eficácia do tratamento antiviral e vigilância de surtos. Por exemplo, durante a pandemia de COVID-19, a biologia molecular desempenhou um papel crucial na identificação do SARS-CoV-2 e no rastreamento de suas variantes, auxiliando nas estratégias de contenção e vacinação (Campos, 2020).

3.4.4 Monitoramento de Doenças Genéticas

O monitoramento de doenças genéticas através de biologia molecular envolve a detecção de mutações genéticas hereditárias e a avaliação de sua expressão ao longo do tempo. Técnicas como o sequenciamento do exoma e do genoma completo permitem a identificação de variantes genéticas responsáveis por doenças monogênicas e poligênicas. Além disso, a análise de RNA mensageiro (mRNA) e de perfis de expressão gênica pode fornecer informações sobre a atividade de genes específicos e sua relação com a manifestação clínica da doença. Esse monitoramento é crucial para o aconselhamento genético, decisões terapêuticas e desenvolvimento de tratamentos direcionados, melhorando a qualidade de vida dos pacientes e oferecendo perspectivas de intervenções precoces (Wünsch Filho; Gattás, 2001).

4 CONCLUSÃO

A Importância dos Testes Moleculares para o Diagnóstico e Controle de Infecções, é de suma importância. Essa compreensão é fundamental para o desenvolvimento tecnológico, pois colabora para o avanço do conhecimento científico e aprimora as práticas de diagnóstico e

monitoramento em saúde pública. Além disso, esse estudo pode contribuir para a implementação de estratégias eficazes de controle de infecções, resultando em melhores cuidados de saúde e redução dos impactos econômicos e sociais negativos associados a surtos epidêmicos.

Ao explorar os fundamentos dos testes moleculares, foi possível compreender os princípios de detecção molecular, as técnicas e metodologias comumente utilizadas, bem como a importância da amplificação de ácidos nucleicos nesses testes. Isso proporcionou uma base para entender as aplicações dos testes moleculares no controle de doenças, no diagnóstico e no monitoramento consecutivamente

Portanto, a substantividade do uso dessas técnicas da ciência da biologia molecular para a atividade profissional em saúde, bem como apresentando perspectivas para o futuro, onde manejos tecnológicos e avançados podem auxiliar na criação de métodos mais avançados ou aperfeiçoamento dos já existentes

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Márcia Silva de. TESTES DE DETECÇÃO PARA COVID-19: Uma perspectiva imunocromatográfica. **Monografia – Bacharelado em Farmácia- Centro Universitário BEZERRA**, Vitor de Lima et al. SARS-CoV-2 como agente causador da COVID-19: Epidemiologia, características genéticas, manifestações clínicas, diagnóstico e possíveis tratamentos. **Brazilian Journal of Health Review**. v.3, n.4, p. 8452-8467, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/13364/11226>. Acesso em: 13 jun 2024.

CAMPOS, Karoline Rodrigues. Estratégias de melhoria, expansão do diagnóstico e monitoramento das infecções por HTLV-1 e HTLV-2 nas coinfeções por HIV, HBV e HCV. **Tese (Doutorado) Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo**. 2020. Disponível em: https://docs.bvsalud.org/biblioref/2021/01/1146173/tese_ppg-ccd_camposkr_2020.pdf.

CAVALCANTI, Milena Paiva Cavalcanti *et al.* Avanços biotecnológicos para o diagnóstico das doenças infecciosas e parasitárias. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 37, n. 1, p. 01-14, 2008. Disponível em: <<https://revistas.ufg.br/iptsp/article/download/4026/3601>>. Acesso em: 15 jun. 2024. Acesso em: 13 jun 2024

COSTA-PINHEIRO, Pedro et al. Diagnostic and prognostic epigenetic biomarkers in cancer. **Epigenomics**. v. 6, p. 1003 – 1015, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/epi.15.56online.com>). Acesso em: 14 jun 2024.

DE SOUTO, M. C. P. et al. Técnicas de aprendizado de máquina para problemas de biologia molecular. **Sociedade Brasileira de Computação**, v. 1, n. 2, 2003. Disponível em: <<https://www.cin.ufpe.br/~mcps/ENIA2003/jaia2003-14-08.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2024
FENG, Qinghua; YU, Mujun; KIVIAT, Nancy. Molecular biomarkers for cancer detection in blood and bodily fluids. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**. v.43, p. 497-560, 2008. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10408360600922632>. Acesso em: 14 jun 2024.

GIL, Antonio C. **Como Elaborar Projetos de Pesquisa**. São Paulo: Grupo GEN, 2022. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9786559771653/>.

Acesso em: 13 jun 2024.

LOZADA, Gisele; NUNES, Karina S. **Metodologia científica**. 1 ed. Porto Alegre: Grupo A, 2019. *E-book*. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595029576/>. Acesso em: 13 jun 2024.

PAVÃO, Ana Luiza et al. Nota técnica: Considerações sobre o diagnóstico laboratorial da Covid-19 no Brasil. **Fundação Oswaldo Cruz**. 2020. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/handle/icict/42557/Considera%c3%a7%c3%b5esDiagnosticoLaboratorialPandemia.pdf?sequence=2&isAllowed=yaboratorialPandemia.pdf> (fiocruz.br). Acesso em: 12 jun 2024.

REIS, João C. et al, 2020. Acurácia do teste de reação em cadeia po polimerase (PCR), no diagnóstico da síndrome respiratória aguda por coronavírus: revisão sistemática e meta-análise. Disponível em: <<https://www.amb.org.br/wp-content/uploads/2020/09/RT-PCR-NA-INFEC%C3%87%C3%83O-POR-COVID-19-FINAL-14.07.2020.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2024.

SALVATO, Richard Steiner. Epidemiologia molecular e genômica de Mycobacterium tuberculosis na Região Sul do Brasil. **Tese (Doutorado) – Pós graduação em Biologia Molecular – Centro de Biotecnologia da UFRGS**. 2022. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/257929/001167232.pdf;jsessionid=76B8A7EB62144C7791E885AB7A9950B5?sequence=1B7A9950B5> (ufrgs.br). Acesso em: 13 jun 2024.

SEEMAYER, TA. Polymerase chain reaction. **Pediatric Pathology**. v. 10, p. 311 – 317, 1990. Disponível em: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2190196/chain reaction - PubMed \(nih.gov\)](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2190196/chain%20reaction/). Acesso em: 14 jun 2024.

SIMÕES, Ana Carolina Quirino. **Planejamento, gerenciamento e análise de dados de microarranjos de DNA para identificação de biomarcadores de diagnóstico e prognóstico de cânceres humanos**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. Disponível em: <<https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/95/95131/tde-12092013-172649/publico/tese.pdf>>. Acesso em: 15 jun. 2024.

WUNSCH FILHO, Victor; GATTÁS, Gilka J. Figaro. Biomarcadores moleculares em câncer: implicações para a pesquisa epidemiológica e a saúde pública. **Caderno de Saúde Pública**. v.17, p. 467-480. Disponível em: <https://www.scielo.org/pdf/csp/v17n3/4631.pdf>. Acesso em: 12 jun 2024.

ZATZ, Mayana. A biologia molecular contribuindo para compreensão e a prevenção das doenças hereditárias. **Ciência e Saúde Coletiva**. v. 7, p. 85-99, 2002. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csc/a/QPDCC7QbHmDDpgGS8rNtBFH/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 14 jun 2024.

YANG, Samuel; ROTHMAN, Richard E. PCR-based diagnostics for infectious diseases: uses, limitation, and future applications in acute-care settings. **The Lancet infectious diseases**, v. 4, n. 6, p. 337-348, 2004. Disponível em: <<https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473309904010448/fulltext>>. Acesso em: 15 jun. 2024.