

Ensaio Diagnóstico para Detecção do Vírus Oropouche em Amostras Humanas: Revisão Sistemática

Diagnostic Assays for Detection of Oropouche Virus in Human Samples: Systematic Review

Larissa Santos Carneiro Gomes¹, Bárbara Nazly Rodrigues Santos², Demetrius Lucas da Silva¹ e Lindomar José Pena^{1,2}

1. Programa de pós-graduação em Genética e Biologia Molecular. Universidade Federal de Pernambuco (PPGGBM/UFPE).

2. Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-PE).

larissa.lscg@ufpe.br

Palavras-chave

Arbovírus
 Testes diagnósticos
 Vírus oropouche

Keywords

Arbovirus
 Diagnostic tests
 Oropouche virus

Resumo:

O vírus Oropouche (OROV), transmitido pelo mosquito *Culicoides paraensis*, causa febre e sintomas semelhantes a outras arboviroses, podendo suscitar complicações neurológicas. Desde 1955, o vírus infectou mais de 500 mil pessoas, com expansão geográfica recente para outras regiões não endêmicas. Apesar disto, a detecção precisa do OROV é um desafio, corroborando também para altos índices de subnotificação da doença. O presente estudo compara métodos diagnósticos de OROV quanto à sensibilidade e limites de detecção, destacando vantagens e limitações. Após revisão sistemática, foram selecionados quatro estudos. Foi possível observar que a técnica ddPCR foi a mais sensível, detectando até 1 cópia/μL de RNA viral. Com isso, técnicas diagnósticas aprimoradas como a citada, aumentam a precisão diagnóstica. Contudo, há necessidade de validações mais amplas e custos reduzidos para maior escalabilidade global, considerando viabilidade técnica e financeira.

Abstract:

The Oropouche virus (OROV), transmitted by the *Culicoides paraensis* mosquito, causes fever and symptoms similar to other arboviruses, and can lead to neurological complications. Since 1955, the virus has infected more than 500,000 people, with recent geographic expansion to other non-endemic regions. Despite this, accurate detection of OROV is a challenge, also corroborating high rates of underreporting of the disease. This study compares OROV diagnostic methods in terms of sensitivity and detection limits, highlighting advantages and limitations. After a systematic review, four studies were selected. It was possible to observe that the ddPCR technique was the most sensitive, detecting up to 1 copy/μL of viral RNA. Therefore, improved diagnostic techniques such as the one mentioned above increase diagnostic accuracy. However, there is a need for broader validations and reduced costs for greater global scalability, considering technical and financial feasibility.

Artigo recebido em: 08.12.2024.

Aprovado para publicação em: 31.01.2025.

INTRODUÇÃO

O vírus Oropouche (OROV), identificado pela primeira vez em humanos durante um surto febril em 1955 em Trinidad e Tobago, é transmitido principalmente pelo mosquito *Culicoides paraensis*. A infecção pelo vírus causa sintomas indistinguíveis de outras arboviroses, como cefaléia, mialgia, náusea e fotofobia,

apresentando febre aguda que pode perdurar de 5 a 7 dias e, em casos raros, suscitar complicações neurológicas (Zhang et al., 2024).

Desde a sua descoberta, o OROV foi responsável por mais de 500 mil casos. Inicialmente restrito a áreas endêmicas da América do Sul, como a Amazônia, o vírus tem revelado expansão geográfica importante nos últimos anos, com novos surtos entre 2015 e 2024 (Scachetti et al., 2024).

Até agosto de 2024, mais de 8 mil casos foram confirmados na Bolívia, Colômbia, Brasil, Peru e Cuba, além de 21 casos associados à viagens, revelando a disseminação da doença para além de suas zonas tradicionais (Morrison et al., 2024). Dados de outubro de 2024, divulgados pela Secretaria de Saúde de Pernambuco, já confirmaram seis óbitos associados ao OROV no Estado, destes, três tratam-se de fetos infectados, o que demonstra o risco potencial para mulheres grávidas (G1, 2024).

O aumento de casos pode estar associado a fatores como a expansão de áreas urbanizadas, mobilidade humana, alterações climáticas e adaptação dos vetores a ambientes menos favoráveis. Apesar da sua crescente disseminação, a detecção precisa do OROV é um desafio, ocasionando um alto índice de subnotificações (Files et al., 2022).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo a comparação entre os principais métodos diagnósticos utilizados para detecção do OROV em amostras clínicas, considerando os que apresentam maior sensibilidade e/ou menor limite de detecção, apontando as vantagens e limitações das técnicas atualmente desenvolvidas.

METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão sistemática da literatura através das palavras-chave “*Oropouche virus*”, “*diagnostic assay*” e “*human*” que foram usadas como termos de busca nos bancos de dados Pubmed, Science Direct e BVS. Encontrou-se 18 artigos na PubMed, 13 na BVS e 92 no Science Direct.

Os revisores avaliaram os estudos de forma independente usando critérios de inclusão e exclusão. Os critérios de inclusão definidos foram: artigos originais completos, publicados em língua inglesa, nos últimos 5 anos, pesquisas que realizaram ensaios de diagnóstico para detecção do OROV em amostras de origem humana, em que foram avaliados a sensibilidade ou limite de detecção do método.

Por sua vez, os critérios de exclusão foram: artigos em língua não inglesa, publicados a mais de 5 anos, pesquisas baseadas em animais ou células, revisões, resumos de congressos ou livros e artigos sem dados completos. Ao final, 4 estudos foram incluídos nesta revisão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos quatro estudos analisados, 1177 amostras clínicas foram testadas para OROV. Todos utilizaram a técnica RT-qPCR, considerada o padrão-ouro para detecção viral, junto com outros métodos, como rRT-PCR, ddPCR e amplificação multiplexada. Esses ensaios focaram em diferentes genes-alvo do OROV, detalhados na tabela 1, acompanhado de outras características dos estudos.

No geral, o objetivo dos estudos selecionados para esta revisão foi testar amostras de pacientes febris para OROV, visando validar métodos de detecção mais eficazes ou otimizados para o patógeno.

O estudo de Rojas et al. (2020) desenvolveu um novo ensaio de RT-PCR (rRT-PCR) para detectar OROV e seus recombinantes. O ensaio mostrou alta sensibilidade, detectando até 5,6 cópias/ μ L de RNA viral, sendo mais eficaz que métodos anteriores.

Tabela 1. Características dos estudos selecionados sobre métodos de diagnóstico para OROV

Autor (Ano)	País	Tipo de amostra	Gene alvo	Número de amostras clínicas	Método diagnóstico utilizado	Sensibilidade do método	Limite de detecção do método
Rojas , et al (2020)	Paraguai	Soro	S	100	rRT-PCR	100%	>10 cópias/ μ L
Wise, et al (2020)	Equador	Plasma	S, M e L	258	RT-qPCR e RT-PCR multiplex	-	10 cópias de RNA
Ciuoderis, et al (2022)	Colômbia	Soro	L e M	791	RT-qPCR e sorologia	-	~ 2,5 cópias/reacção e 0,6 PFU/ml
Pomari, et al (2024)	Itália	Sangue total, soro e urina	S	28	ddPCR	75 a 100%	Até 1 cópia/ μ L

No entanto, não houve casos positivos entre 100 pacientes testados, possivelmente pela limitação geográfica do estudo. Wise et al. (2020) exploraram variações geográficas de amostras de OROV. Porém, o ensaio RT-qPCR de alvo único não mostrou-se eficiente, sendo necessária a elaboração de um ensaio multiplex para identificação de seis amostras positivas. O uso de técnicas sofisticadas, como o sequenciamento metagenômico, fez-se necessário para detecção de OROV em amostras com alta carga viral ($C_{qs} > 35$).

Ciuoderis et al. (2022) empregaram RT-qPCR e testes sorológicos, detectando 10,9% de casos positivos para OROV, além de casos de coinfeção com outras arboviroses. No entanto, a curta janela virêmica levou a alguns falso-negativos sendo, novamente, o sequenciamento uma alternativa para aumento da sensibilidade. Pomari et al. (2024) avaliaram a sensibilidade do teste para detecção de OROV com diferentes tipos de amostras biológicas (soro, sangue e urina).

A ddPCR demonstrou maior sensibilidade que a RT-qPCR, sendo capaz de detectar até uma 1 cópia/ μ L. Contudo, amostras com alta carga viral também reduziram a sensibilidade do teste. Além disso, os autores apontaram a importância de um grupo amostral maior para as validações e uso de controles nos ensaios.

CONCLUSÕES

Os estudos destacam o desenvolvimento de métodos mais sensíveis, especialmente o ensaio ddPCR proposto por Pomari et al., (2024), contudo destacam a necessidade de reduzir custos e utilizar um número maior de amostras para validação em escala global, ampliando a capacidade diagnóstica.

REFERÊNCIAS

- CIUODERIS, Karl A. et al. Oropouche virus as an emerging cause of acute febrile illness in Colombia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 10 , p. 2449-2455, out. 2022.
- FILES, Megan A. et al. Baseline mapping of Oropouche virology, epidemiology, therapeutics, and vaccine research and development. **npj Vaccines**, v. 7, n. 1, p. 1-11, 2022.

G1. **Pernambuco tem três novas mortes de feto com Oropouche confirmadas; estado totaliza seis óbitos.** G1 Pernambuco, 09 out. 2024. Disponível em: <https://g1.globo.com/pe/pernambuco/noticia/2024/10/09/pernambuco-tem-tres-novas-mortes-de-feto-com-oropouche-confirmadas-estado-totaliza-seis-obitos.ghtml>. Acesso em: 11 out. 2024.

MORRISON, Andrea et al. Oropouche virus disease among U.S. travelers - United States 2024. **MMWR**, v. 73, n. 20, p. 485-488, set. 2024.

POMARI, Elena et al. ddPCR for the detection and absolute quantification of Oropouche virus. **Viruses**, v. 16, n. 1, p. 1-15, set. 2024.

ROJAS, Alejandra et al. Real-time RT-PCR for the detection and quantitation of Oropouche virus. **Journal of Clinical Virology**, v. 128, p. 104-357, jan. 2020.

SCACHETTI, G. C. et al. Reemergence of Oropouche virus between 2023 and 2024 in Brazil. **medRxiv: The Preprint Server for Health Sciences**, p. 2024.07.27.24310296, jul. 2024.

WISE, Emma L. et al. Oropouche virus cases identified in Ecuador using an optimised qRT-PCR informed by metagenomic sequencing. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 9, p. e0008573, jan. 2020.

ZHANG, Y. et al. Oropouche virus: A neglected global arboviral threat. **Virus Research**, v. 341, p. 199318, mar. 2024.

