

ESPECTROSCOPIA RAMAN PARA IDENTIFICAÇÃO E DIAGNÓSTICO DA DENGUE COM AMOSTRAS DE SANGUE E URINA

Jéssica Karoline da Cunha¹; Landulfo Silveira Jr² (PhD), Marcos Tadeu Tavares Pacheco³ (Dr).

RESUMO

A dengue é uma doença viral grave que representa um desafio de saúde pública global. Métodos diagnósticos rápidos e não invasivos são fundamentais para o controle da doença. A espectroscopia Raman, por sua alta sensibilidade e especificidade, tem se destacado como ferramenta promissora para diagnóstico biomédico.

O objetivo desta pesquisa é avaliar a aplicabilidade da espectroscopia Raman para a detecção da dengue utilizando amostras de urina como alternativas não invasivas às tradicionais amostras sanguíneas.

Realizou-se revisão de literatura sobre a utilização da espectroscopia Raman no diagnóstico de doenças virais, com ênfase na infecção pelo vírus da dengue. Foram analisados os princípios físicos da técnica, suas vantagens e limitações, bem como a viabilidade do uso de fluidos alternativos na prática diagnóstica.

A espectroscopia Raman demonstrou capacidade de detecção de alterações moleculares específicas associadas à infecção por dengue, inclusive em matrizes não invasivas como a urina. Este fluido apresentou detecção prolongada do RNA viral e do antígeno NS1, enquanto a saliva, apesar da menor concentração de biomarcadores, mostrou-se útil para a identificação precoce da infecção.

A espectroscopia Raman configura-se como uma técnica promissora para o diagnóstico da dengue em amostras de urina, podendo contribuir para diagnósticos rápidos, não invasivos e de alta sensibilidade, com potencial de aplicação em larga escala, especialmente em contextos de difícil acesso à saúde.

Palavras-chave: Dengue; Espectroscopia Raman; Urina.

INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença viral que afeta diversas regiões do mundo, constituindo um sério problema de saúde pública em áreas tropicais e subtropicais [5]. A infecção pelo vírus da dengue (DENV) representa uma condição epidêmica de grande impacto. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), anualmente cerca de 400 milhões de pessoas são infectadas pelo vírus, sendo que 96 milhões desenvolvem sintomas clínicos e aproximadamente 20.000 evoluem para óbito [1].

A transmissão ocorre pela picada da fêmea infectada do mosquito *Aedes aegypti*. Atualmente, são reconhecidos quatro sorotipos distintos do vírus da dengue (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4) [5]. A quinta e mais recente adição aos sorotipos existentes do vírus da dengue é o DENV-5, anunciado em outubro de 2013 em um hospital no estado de Sarawak, na Malásia, no ano de 2007 [16]. O DENV é constituído por uma fita simples de RNA da família *Flaviviridae*, que, após a infecção, é replicada e traduzida para produção de novas partículas virais. As proteínas não estruturais, especialmente a NS1, desempenham papel crucial na replicação do RNA viral. A proteína NS1 circula no plasma sanguíneo dos indivíduos infectados nos primeiros dias de infecção e, por isso, é considerada um biomarcador viável para o diagnóstico precoce por técnicas como PCR (reação em cadeia da polimerase) e ELISA (ensaio imunoenzimático) [1].

Os sintomas clássicos da dengue incluem cefaleia intensa, febre alta, vômitos, mialgia, artralgia e exantema. Em casos graves, observa-se hemorragia, hipotensão, extravasamento de plasma e trombocitopenia, podendo a doença evoluir para síndrome do choque da dengue (DSS) ou febre hemorrágica da dengue (DHF), condições associadas a alta mortalidade [2]. A recuperação dos pacientes depende de suporte clínico adequado e reposição eletrolítica, sendo o diagnóstico precoce e preciso fundamental para o controle das epidemias e a redução da letalidade [3].

A espectroscopia Raman tem se destacado nas últimas décadas como uma técnica altamente sensível e específica para a detecção de alterações biomédicas associadas a diversas patologias [1]. Diversos estudos já demonstraram sua aplicação no diagnóstico de cânceres e doenças infecciosas [3].

Atualmente, os métodos diagnósticos baseados na detecção da proteína NS1 utilizam majoritariamente amostras sanguíneas, procedimento que é invasivo. O risco de transmissão de doenças, a dor provocada pela coleta e a superlotação hospitalar contribuem para o atraso no diagnóstico e o aumento da mortalidade por dengue. Embora a NS1 também possa ser detectada em saliva, a sensibilidade nessa matriz é inferior à obtida em amostras de sangue. Assim, quando se utiliza a saliva como matriz, torna-se necessária a adoção de técnicas mais específicas e sensíveis [13].

MATERIAIS E MÉTODOS

Em 10 de dezembro de 1930, C. V. Raman recebeu o Prêmio Nobel de Física por suas pesquisas sobre a dispersão da luz e a descoberta do efeito que leva seu nome. Na mesma cerimônia, Hans Fischer foi laureado com o Nobel de Química por seus estudos sobre a constituição da hemina e da clorofila, enquanto Karl Landsteiner foi reconhecido com o Nobel de Fisiologia/Medicina pela descoberta dos grupos sanguíneos humanos. Desde então, a espectroscopia Raman consolidou-se como uma técnica analítica fundamental, assim como a coleta, transfusão e pesquisa sanguínea evoluíram para práticas globais que envolvem milhares de profissionais [9].

A espectroscopia Raman consiste na análise da luz espalhada inelasticamente, que fornece informações sobre os modos vibracionais das moléculas presentes em uma amostra. Entre suas vantagens, destacam-se a rapidez, a não destrutividade da análise e a mínima interferência da água, o que reduz a necessidade de preparo de amostras [9].

Essa técnica baseia-se na mudança da polarizabilidade das moléculas sob radiação eletromagnética, gerando um espalhamento inelástico (espalhamento Raman) que carrega informações sobre as vibrações moleculares. Tal propriedade a tornou uma ferramenta poderosa para a análise de tecidos e fluidos biológicos [10].

A espectroscopia Raman é capaz de detectar alterações em macromoléculas biológicas, como lipídios, proteínas e DNA, de maneira simultânea e com alta sensibilidade, sendo útil para o diagnóstico de patologias como infecção pelo vírus do papiloma humano (HPV), hepatite C (HCV) e dengue [1,3].

Neste contexto, a utilização de amostras não invasivas, como saliva e urina, emerge como uma alternativa promissora no diagnóstico de infecções virais. Embora a literatura relate o uso dessas matrizes em arboviroses, elas ainda não foram amplamente incorporadas à prática clínica de rotina [15].

A saliva e a urina têm mostrado potencial como fluidos diagnósticos na dengue. Os anticorpos IgA, IgG e IgM encontrados na saliva possuem concentrações semelhantes às do soro. No entanto, embora a saliva permita a detecção de biomarcadores, ainda existem lacunas na literatura quanto à padronização dos métodos [15].

A espectroscopia Raman, por sua alta sensibilidade, apresenta potencial para detectar biomoléculas em concentrações ultrabaixas, possibilitando a identificação viral em fluidos como saliva e urina [10].

A urina, apesar de apresentar concentrações mais baixas de anticorpos, permite a detecção eficiente do antígeno NS1 e do RNA do DENV, que, segundo a literatura, permanece detectável por um período mais prolongado em comparação ao soro [15]. Estudos indicam que a pesquisa de RNA viral na urina associada à detecção de anticorpos aumenta a sensibilidade diagnóstica [15].

RESULTADOS ESPERADOS

A espectroscopia Raman é uma técnica sensível capaz de detectar alterações em biomoléculas como proteínas, lipídios e DNA, sendo aplicada no diagnóstico de diversas infecções virais, incluindo dengue, HPV e hepatite C [5].

Neste cenário, amostras não invasivas como saliva e urina vêm ganhando destaque, por apresentarem biomarcadores relevantes como anticorpos e o antígeno NS1. A urina, em especial, permite a detecção do RNA viral por mais tempo que o soro. Apesar do potencial diagnóstico, essas matrizes ainda são pouco exploradas na prática clínica. A combinação da espectroscopia Raman com essas amostras pode representar uma alternativa promissora para o diagnóstico precoce, preciso e menos invasivo da dengue [15].

CONCLUSÃO

Conclui-se que a espectroscopia Raman apresenta grande potencial para a identificação e o diagnóstico precoce da dengue por meio da análise de amostras de urina, devido à sua capacidade de caracterizar simultaneamente alterações em macromoléculas biológicas, como lipídios, proteínas e DNA [1]. Apesar da urina apresentar maior tempo de excreção de RNA viral em comparação à saliva, esta última ainda se mostra mais consolidada na prática diagnóstica, por possibilitar a detecção de partículas virais infecciosas com baixos limites de detecção [5,6].

REFERÊNCIAS

1. Mahmood T, Nawaz H, Ditta A, Majeed MI, Hanif MA, Rashid N, et al. Raman spectral analysis for rapid screening of dengue infection. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018 Jul 1;200:136–42.
2. Swapna MS, Shinker SS, Suresh S, Sankararaman S. Raman spectroscopic and fractal analysis of blood samples of dengue fever patients. *Bio-Medical Materials and Engineering*. 2018 Nov 14;29(6):787–97.
3. Khan S, Ullah R, Khan A, Sohail A, Wahab N, Bilal M, et al. Random Forest-Based Evaluation of Raman Spectroscopy for Dengue Fever Analysis. *Applied Spectroscopy*. 2017 Mar 17;71(9):2111–7.
4. Hassan M, Ali S, Saleem M, Sanaullah M, Fahad LG, Kim JY, et al. Diagnosis of dengue virus infection using spectroscopic images and deep learning. *PeerJ Computer Science* [Internet]. 2022 Jun 1;8:e985. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9202626/>.
5. Shamaraz Firdous, Anwar S. Optical Diagnostic of Dengue Virus Infected Human Blood using Raman, Polarimetric and Fluorescence Spectroscopy. *InTech eBooks*. 2017 Jul 26.

6. Naseer K, Amin A, Saleem M, Qazi J. Raman spectroscopy based differentiation of typhoid and dengue fever in infected human sera. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2019 Jan;206:197–201.
7. A.R. M. Radzol, Lee KY, Mansor W, Wong PS, I. Looi. PCA-MLP SVM distinction of salivary Raman spectra of dengue fever infection. *PubMed*. 2017 Jul 1;1:2875–8.
8. Firdous S, Ahmed M, Rehman A, Nawaz M, Anwar S, Murtaza S. Transmission spectroscopy of dengue viral infection. *Laser Physics Letters*. 2012 Jan 30;9(4):317–21.
9. Atkins CG, Buckley K, Blades MW, Turner RFB. Raman Spectroscopy of Blood and Blood Components. *Applied Spectroscopy*. 2017 Apr 11;71(5):767–93.
10. Lukose J, Ajaya Kumar Barik, Mithun N, Sanoop Pavithran M, George SD, Vadakke Matham Murukeshan, et al. Raman spectroscopy for viral diagnostics. *Biophysical Reviews*. 2023 Apr 1;15(2):199–221.
11. Jacob SS, Lukose J, Bankapur A, Mithun N, Vani Lakshmi R, Acharya M, et al. Micro-Raman spectroscopy study of optically trapped erythrocytes in malaria, dengue and leptospirosis infections. *Frontiers in Medicine*. 2022 Oct 6;9.
12. Sánchez-Purrà M, Carré-Camps M, Helena de Puig, Bosch I, Gehrke L, Hamad-Schifferli K. Surface-Enhanced Raman Spectroscopy-Based Sandwich Immunoassays for Multiplexed Detection of Zika and Dengue Viral Biomarkers. *ACS Infectious Diseases*. 2017 Sep 6;3(10):767–76.
13. Othman NH, A. R. M. Radzol, Lee KY, Mansor W. Reduced Featured k-NN Classifier Model Optimal for Classification of Dengue Fever from Salivary Raman Spectra. *PubMed*. 2019 Jul 1.
14. Gahlaut SK, Deepali Savargaonkar, Sharan C, Yadav S, Mishra P, Singh JP. SERS Platform for Dengue Diagnosis from Clinical Samples Employing a Hand Held Raman Spectrometer. *Analytical Chemistry*. 2020 Jan 7;92(3):2527–34.

15. Santos Y. Ciências da saúde: ensino, formação e pesquisa. Amplla Editora.
16. Mustafa MS, Rasotgi V, Jain S, Gupta V. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. Medical Journal Armed Forces India. 2015 Jan;71(1):67–70.