



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**COMPONENTES ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COV) COMO BIOMARCADORES
DA COVID-19**

LUCAS VINNICIO DE ARAUJO SANTANA

RECIFE/PE

2023

LUCAS VENNIO DE ARAUJO SANTANA

**COMPONENTES ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COV) COMO BIOMARCADORES
DA COVID-19**

Monografia apresentada ao Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas/UFRPE como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Anísio Francisco Soares

RECIFE/PE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas

S232Luc
asc Santana, Lucas Vinnicio de Araujo
COMPONENTES ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COV) COMO BIOMARCADORES DA COVID-19 / Lucas
Vinnicio de Araujo Santana. - 2023.
58 f. ; il.

Orientador: Anisio Francisco Soares.
Inclui referências e anexo(s).

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Bacharelado em Ciências Biológicas, Recife, 2023.

1. Pandemia. 2. Cães farejadores. 3. VOC. 4. Diagnóstico. 5. Saúde única. I. Soares, Anisio Francisco, orient. II. Título

LUCAS VINNICIO DE ARAUJO SANTANA

**COMPONENTES ORGÂNICOS VOLÁTEIS (COV) COMO
BIOMARCADORES DA COVID-19**

Comissão Avaliadora:

Prof. Dr. Anísio Francisco Soares – DMFA/UFRPE
Orientador

Prof^a Dr^a Mariza Brandão Palma - DMFA/UFRPE
Titular

Prof^a. Dr^a Natalie Emanuelle Ribeiro Rodrigues – UPE
Titular

Prof. Msc. Alvaro Deangelles Pereira Florentino - SEDUC/PE
Suplente

RECIFE/PE

2023

AGRADECIMENTOS

Ao mundo.

Sumário

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	7
INTRODUÇÃO.....	8
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	9
1.1. A Pandemia.....	9
1.1.1. O paciente zero.....	9
1.1.2. O contágio.....	10
1.2. Os cães.....	11
1.2.1. A domesticação.....	11
1.2.2. Os cães na saúde pública.....	13
1.3. A metabolômica da Doença.....	15
1.3.1. As origens.....	15
1.3.2. A metabolômica da COVID-19.....	16
Objetivos.....	18
Geral.....	18
METODOLOGIA.....	18
REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO I.....	22
Introdução.....	25
Métodos.....	28
Resultados.....	30
Discussão.....	38
Conclusão.....	43
Referências.....	51
CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....	56
ANEXOS.....	57

RESUMO

Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a pandemia do novo Coronavírus quando o mundo já contava com 118 mil casos, 4,2 mil mortes e 114 países com registros. Com a falta de tratamentos eficazes e a ausência de vacina, a atenção dos cientistas se voltou para o diagnóstico da doença e para formas de prevenir sua transmissão. Embora o teste de RT-PCR seja amplamente utilizado, ele apresenta algumas desvantagens, como a invasividade da coleta, o custo e o tempo de realização. A detecção de componentes orgânicos voláteis (COV) surgiu como uma alternativa menos invasiva e eficaz para o diagnóstico da COVID-19. A infecção por um agente patogênico pode desencadear uma série de alterações no comportamento celular do organismo. Essas mudanças são causadas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro e pela degradação das células infectadas. Compreender as moléculas envolvidas nesse processo é fundamental para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico que possam ajudar no combate à pandemia. Para investigar os biomarcadores orgânicos voláteis (COV) da COVID-19, uma revisão sistemática foi realizada com base nas orientações da *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA).

Palavras-chave: COV, Diagnóstico, Novo coronavírus, Revisão sistemática.

ABSTRACT

In March 2020, the World Health Organization (WHO) declared the COVID-19 pandemic when the world had already reported 118,000 cases, 4.2 thousand deaths, and 114 countries with confirmed cases. With the lack of effective treatments and vaccines, scientists turned their attention to diagnosing the disease and finding ways to prevent its transmission. Although RT-PCR testing is widely used, it has some disadvantages, such as invasiveness of sample collection, cost, and time. Detection of volatile organic compounds (VOC) has emerged as a less invasive and effective alternative for COVID-19 diagnosis. Infection by a pathogenic agent can trigger a series of changes in the organism's cellular behavior. Understanding the molecules involved in this process is critical for developing diagnostic techniques that can help combat the pandemic. To investigate the relationship between COVID-19 and organic volatile biomarkers (VOC), a systematic review was conducted based on the *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) guidelines.

Keywords: Diagnosis, Novel coronavirus, Systematic review, VOC.

INTRODUÇÃO

A pandemia causada pelo novo coronavírus, SARS-CoV-2, que eclodiu em 11 de março de 2020, deixou expostas diversas vulnerabilidades da sociedade moderna. O mundo globalizado e intensamente dinâmico possibilitou a dispersão do vírus rapidamente, antes mesmo que medidas concretas pudessesem ser tomadas. O diagnóstico dos pacientes infectados se tornou uma etapa crucial na tentativa de impedir o avanço da doença.

Atualmente, a forma mais clássica de detecção se dá através da reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR), onde o diagnóstico é possível a partir da amplificação do RNA viral nas amostras suspeitas. Entretanto, apesar da popularidade desse teste, ele requer tempo, equipamento e operador especializado, o que pode levar a uma espera significativa para seu resultado. Não suficiente, caso o indivíduo se infecte durante a espera do resultado, receberá um falso negativo (VALLEJO *et al.*, 2022). Outra forma de detecção bastante empregada, foi o teste sorológico, que se baseia nos produtos imunológicos da interação entre agente viral e organismo, como por exemplo a detecção de anticorpos responsivos ao SARS-CoV-2. Apesar do seu uso amplo, os testes sorológicos acabam por funcionar como um método complementar aos demais, visto que não é capaz de detectar a doença em seu estágio ativo, apenas as evidências de um contato anterior, e tendo sido documentados casos de reincidência da infecção, a existência de anticorpos para a COVID-19 não anula a chance de reinfecção.

Assim sendo, não demorou muito para que os cães fossem pensados como uma alternativa na identificação de pacientes, tendo em vista estudos prévios onde se mostraram capazes de distinguir amostras de cânceres, infecções virais, bacterianas e até mesmo epilepsia (CATALA *et al.*, 2018; CORNU *et al.*, 2010; FILIPIAK *et al.*, 2016; MAA *et al.*, 2021; SONODA *et al.*, 2011; WILLIAMS; PEMBROKE, 1989). Apesar dos agravos serem completamente distintos um dos outros, em suma, o cerne da estratégia de detecção olfativa canina é a presença de componentes orgânicos voláteis (COVs) exalados pelo organismo não saudável em seus mais diversos fluidos. Esses componentes seriam originados pelo maquinário celular, que ao ser infectado apresenta um comportamento diferente, alterando seus metabólitos. Além disso, a alteração do estado saudável pode impactar

significativamente na microbiota do hospedeiro, que apesar de possuírem metabolismo próprio, têm seu comportamento afetado em decorrência da doença (BERNA; JOHN, 2021; LICHTENSTEIN *et al.*, 2021). Como consequência, produtos igualmente distintos são produzidos, assumindo uma assinatura química que possibilita identificar organismo saudável e infectado. Embora muitos desses componentes sejam imperceptíveis para a olfação humana, cães podem detectá-los, e, com o treinamento correto podem oferecer um diagnóstico rápido e preciso.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. A Pandemia

1.1.1. O paciente zero

Quinta-feira, 10 de dezembro de 2019, Wuhan, capital da província de Hubei, China, uma comerciante de frutos-do-mar deu entrada em um hospital da região devido a uma pneumonia misteriosa. Trata-se da primeira notificação conhecida do que viria a ser chamada de COVID-19. Não demorou muito para que outros 26 casos fossem notificados nos demais hospitais da região, parte deles, relacionados com o mercado municipal de Huanan, e em pouco menos de três semanas, autoridades públicas reportam os casos da doença misteriosa à Organização Mundial da Saúde (OMS) (WOROBAY *et al.*, 2022).

Os sintomas apresentados eram comuns, e iam desde tosse seca, febre, fadiga, dor muscular e falta de ar. Alguns apresentavam náuseas e diarréia (ZHOU *et al.*, 2020). Na semana seguinte, 07 de janeiro de 2020, cientistas chineses identificam que o agente infeccioso da doença até então desconhecida era um novo vírus da família Coronaviridae, que tinha atrelado a alguns de seus representantes outros surtos epidemiológicos, como a síndrome respiratória do Oriente Médio, causada pelo MERS-CoV, e a síndrome respiratória aguda grave, pelo SARS. Diferente dos anteriores, a nova espécie, nomeada Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2, ou SARS-CoV-2, não se destacava pela mortalidade, 2,84%, como divulgado pelos boletins chineses no início de janeiro de 2020, mas pela alta taxa de transmissão, que até então era de 2,2 por paciente (SUN *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020). Quanto ao reservatório da doença, parece muito mais complexo de se identificar. Inicialmente, cientistas acreditavam que o novo vírus estivesse relacionado a espécies da família Coronaviridae que infectam morcegos

(*Rhinolophus sinicus*) devido à semelhança de 96% entre seus genomas (ZHOU *et al.*, 2020). Posteriormente, consideraram a hipótese de haver um hospedeiro intermediário entre o morcego e a espécie humana, sendo esse o pangolim (*Manis javanica*), por ser uma espécie que também apresenta infecções pela família do SARS-CoV-2 (MALLAPATY, 2020). Entretanto, inúmeras espécies silvestres eram comercializadas no mercado municipal de Huanan, incluindo outros mamíferos onde estirpes anteriores ao SARS-CoV-2 já haviam sido identificadas, como raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*), texugos-nariz-de-porco (*Arctonyx albogularis*) e cães-guaxinim (*Nyctereutes procyonoides*) (WOROBAY *et al.*, 2022).

1.1.2. O contágio

Nas semanas seguintes, os primeiros casos de COVID-19 fora da China começam a aparecer. Primeiro na Tailândia, 13 de janeiro de 2020, seguido pelo Japão, 16 de janeiro, e Coreia do Sul, 20 de janeiro (WANG *et al.*, 2020). Em 27 de janeiro, a China chegava a 2.761 casos, enquanto outros 37 casos eclodiam no mundo (“Boletim Epidemiológico No 1- Boletim COE Coronavírus — Ministério da Saúde”, [s.d.]). Em 06 de fevereiro, 25 países já registraram casos de COVID-19. Embora 28.060 (99,2%) casos pertencessem à China, outros 216 casos estavam distribuídos entre nações da Ásia, Europa e América do Norte (“Boletim Epidemiológico No 2- Boletim COE Coronavírus — Ministério da Saúde”, [s.d.]).

Em 26 de fevereiro de 2020, o primeiro caso de infecção pelo SARS-CoV-2 foi registrado em território nacional, quando a China já havia ultrapassado a marca de 77.041 casos confirmados e já havia superado todos os casos de SARS decorrentes de 2002. O vírus já havia se alastrado por todo o globo, todos os continentes habitados haviam casos da doença. Então, em 11 de março de 2020, a OMS elevou a doença ao status de pandemia. Pouco mais de um ano depois, o Brasil atingiria seu ápice de óbitos em um único dia. Em 08 de março de 2021, 4.249 pessoas tiveram suas vidas interrompidas por conta da doença. Já o pico de casos veio em 03 de fevereiro de 2022, onde estima-se que 298.408 pessoas testaram positivo para a COVID-19 em um único dia.

Até 31 de dezembro de 2022, os casos acumulados no mundo somam 660.300.641 casos. Os Estados Unidos registraram o maior número de casos acumulados, com 100.749.731 casos. A Índia vem logo após, com 44.679.873,

seguidos por França (39.334.073), Alemanha (37.369.866) e Brasil (36.331.281). Quanto ao total de óbitos, houveram 6.689.977 óbitos devido a COVID-19 no mundo até o dia 24 de dezembro de 2022. Os Estados Unidos detém o maior número de óbitos acumulados (1.092.674), seguido por Brasil (693.853), Índia (530.705), Rússia (385.789) e México (331.099). A taxa de mortalidade mundial até a data de referência (31 de dezembro de 2022), é de 838,9/milhão de habitantes, já no Brasil, a taxa é de 3.276,7/milhão habitantes, ocupando a 16^a posição (“Boletim Epidemiológico No 146- Boletim COE Coronavírus — Ministério da Saúde”, [s.d.]).

Desde o primeiro caso registrado até a data de referência (31 de dezembro de 2022), o Brasil acumula 36.331.281 casos confirmados e 693.853 óbitos, tendo a taxa de incidência acumulada na marca de de 17.153,2 casos/100 mil habitantes, quanto a taxa de mortalidade, 327,7 óbitos/100 habitantes. O número de novos casos foi maior na região Sudeste, com 95.414, seguido do Sul, com 55.012, do Nordeste, com 24.354, do Centro-Oeste, com 23.571, e do Norte, com 8.593. O maior registro de número de óbitos novos aconteceu no Sudeste (623), seguido do Nordeste (240), do Sul (144), do Centro-Oeste (81) e do Norte (22) durante a semana de referência. Já em termos de dados acumulados, Espírito Santo (ES) apresentou a maior incidência, 32.262 casos/100 mil habitantes. Quanto aos óbitos, o Rio de Janeiro possui a maior taxa de mortalidade com 440,6 óbitos/100 mil habitantes (“Boletim Epidemiológico No 146- Boletim COE Coronavírus — Ministério da Saúde”, [s.d.]).

1.2. Os cães

1.2.1. A domesticação

Seja devido à sua acuidade sensorial ou obediência perante o homem, cães foram empregados em atividades paralelas às atividades humanas desde muito tempo. Essa cooperação se iniciou desde a domesticação canina, cerca de 14.000 anos atrás, quando o passo dos homens primitivos cruzou-se com as pegadas dos cães selvagens (RAISOR, 2004). Com o desenvolvimento da humanidade, novas comunidades já não eram capazes de se manter por completo a partir da caça e coleta, era necessário estabelecer-se e produzir. Dessa forma surgiram cada vez mais assentamentos humanos. O meio de vida sedentário exigiu a domesticação de diversas espécies, porém, é mais fácil de compreendê-las quando fornecem

alimento, pele ou tecidos. Entretanto, é mais complexo entender quais benefícios mútuos a associação entre cães e homens poderia trazer. Entende-se que os cães selvagens, parente intermediário entre os lobos e os cães como conhecemos hoje, pertencendo à subespécie *Canis lupus familiaris*, começaram a ocupar os arredores dos assentamentos humanos graças ao acúmulo de lixo e carcaças. O ser humano viu que sua presença poderia ser proveitosa para dispersar predadores maiores que oferecessem perigo real à comunidade. Com o cruzamento selecionado de espécimes cada vez mais dóceis, a seleção artificial conduziu a formação de uma nova espécie, os cães domésticos como conhecemos (*Canis familiaris*). A lealdade e obediência desses animais foram essenciais para o estabelecimento de uma das relações mais fortes entre homem-animal, e apesar de hoje em dia não haver mais grandes predadores em sociedade para serem afugentados, esse laço permanece (SMITH *et al.*, 2020).

Durante o curso da humanidade aprendemos a direcionar a atividade canina em funções do cotidiano, como pastoreio e caça, porém, com novas necessidades humanas surgindo seu uso foi cada vez mais ampliado. Hoje, se pode ver cães atuantes em atividades como guia, terapias e, um de seus empregos mais bem conhecidos, investigação. Seja pela sua diligência nata ou pelo faro extremamente aguçado, fizeram dos cães uma ferramenta perfeita para rastreio dos mais diversos tipos. Foram primeiramente empregados nas instituições alemãs, pouco depois da primeira guerra, realizando escolta e rondas com agentes da polícia, o que lhes conferiu o título de cães policiais. Após a segunda guerra os Estados Unidos aderiu a esse uso, formando as unidades K-9 e os cães policiais ganharam o mundo, sendo usados inclusive por outras instituições, podendo realizar reconhecimento de bombas e busca de pessoas desaparecidas ou soterradas. No Brasil, seu primeiro uso foi na polícia de São Paulo, logo sendo incorporado a outros estados, sendo usado, principalmente, no combate ao tráfico (GOMES; OLIVEIRA, 2010).

1.2.2. Os cães na saúde pública

Com o sucesso das unidades caninas na segurança pública, seu uso passou a ser concebido em outras áreas da sociedade, como na saúde. Em 1989, foi relatado pela primeira vez a detecção de um câncer do tipo melanoma, encontrado por um cão na região inguinal de sua tutora (WILLIAMS; PEMBROKE, 1989). Desde

então, pesquisadores procuraram formas de associar a alta acuidade do faro canino com métodos de detecção rápidos e eficazes. Inúmeras doenças já possuem COV associados a sua presença no organismo afetado (FILIPIAK *et al.*, 2016).

Já é sabido que o antígeno prostático específico (PSA) é um marcador importante para o diagnóstico de câncer de próstata e que é exalado na urina do paciente. Em um estudo de 2010, cães farejadores provaram ser capazes de detectá-lo em amostras de urina após treinamento com uma assertividade de 93,9% (CORNÚ *et al.*, 2010).

Entretanto, os estudos não pararam por aí. O faro canino provou ter eficácia melhor no diagnóstico de câncer de colorretal do que o teste convencional, realizado por colonoscopia (SONODA *et al.*, 2011). Nesse estudo, cães foram treinados para identificar odores específicos a partir de amostras positivas, e quando posto em prática obtiveram uma sensibilidade de 97% e uma especificidade de 99%, enquanto o teste convencional, 91% e 99%, respectivamente. Além de comparar amostras aquosas contendo as fezes dos pacientes, o estudo também submeteu amostras de hálito ao faro canino, chegando a conclusão que também era possível identificar, mas com menor precisão. Desta forma, também ficou claro que a detecção independia de hemoglobina ou do sangue contido nas amostras fecais.

Posteriormente, Ehmann e colaboradores (2011), testaram amostras de pacientes com câncer pulmonar e voluntários saudáveis. Após o treinamento devido foram realizados testes olfativos caninos, usando o hálito dos voluntários. Os resultados obtidos foram de 71% de sensibilidade e 93% especificidade para pacientes com câncer. Outro achado importante, foi de que o grau de severidade do câncer não estaria atrelado a chance de identificação, indicando que seria na verdade a presença de um componente crucial para identificação desse câncer, e não a concentração dele.

Além da detecção em amostras de fezes e hálito, cães também se mostraram capazes de distinguir componentes orgânicos voláteis em meio ao sangue, dessa vez em pacientes diagnosticados com câncer ovariano (HORVATH; ANDERSSON; NEMES, 2013). Assim como os estudos anteriores, os cães foram capazes de distinguir células cancerígenas viáveis e marcadores tumorais contidos no plasma sanguíneo, com 97% de sensibilidade e 99% de especificidade.

Os estudos não se restringiram apenas aos biomarcadores do câncer, embora tenham se iniciado neles. Outros estudos observaram a sensibilidade do olfato canino com as mais diversas doenças. Pesquisadores avaliaram a possibilidade da detecção canina em amostras suspeitas de bacteriúria. As amostras positivas foram diagnosticadas a partir de testes bioquímicos e em seguida submetidas ao teste com cães treinados, junto das amostras negativas. O teste com cães apontou que eram capazes de detectar a presença de *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp e *Staphylococcus aureus*, numa concentração de 100.000 UFC/mL com sensibilidade próxima de 100% e especificidade acima de 90% (MAURER *et al.*, 2016).

Ao estudar a diarréia viral bovina (BVDV), pesquisadores foram capazes de localizar COV característicos em quantidades suficientes para serem detectados através de detecção olfativa canina nos mais diversos fluidos advindos de um animal paciente. Sangue, urina, saliva, fezes e fluidos do trato nasal foram testados, além do vírus cultivado em células bovinas. Nesse estudo, o cultivado viral obteve maior sensibilidade e especialidade (97.22% e 97.11%) quando submetido ao teste do olfato canino, o que indica que apesar da natureza dos fluidos, deve haver componentes orgânicos voláteis associados a doença que se preservam, possibilitando a detecção (SINGLETARY *et al.*, 2022).

E os estudos foram além, e propuseram que o olfato canino seria sensível até mesmo à epilepsia. Embora as crises epiléticas se originem de múltiplos fatores, como alterações estruturais do cérebro, genética, traumatismos e tumores, cães treinados puderam identificar um padrão olfativo de compostos voláteis que precedem a crise. Não obstante, os cães puderam reconhecer com amostras de suor colhidas durante as crises diferenciando-as das colhidas durante atividade física dos pacientes epiléticos e durante seu estado de repouso, corroborando que esses COV estão de fato atrelado às crises, e não meramente a sudorese humana (CATALA *et al.*, 2018). Um estudo mais recente também mostrou que cães eram sensíveis a um odor único exalado por pacientes minutos antes da crise epiléptica e durante seu ápice com 93,7% de assertividade (MAA *et al.*, 2021).

1.3. A metabolômica da Doença

1.3.1. As origens

Inicialmente, as primeiras hipóteses formuladas para justificar a alteração de metabólitos em resposta a determinado agravo levavam em conta apenas o metabolismo do organismo afetado diretamente, e não os demais organismo dependentes dele. Atualmente, no entanto, já é consenso que a saúde de um organismo reflete diretamente sob a microbiota que ele abriga, tal como a microbiota também deverá impactar na sua saúde (BERNA & JOHN, 2021).

O estado de organismo doente e saudável altera o comportamento não só das células do próprio organismo, mas também da microbiota ao qual está associado (principalmente, intestinal e das vias respiratórias). Essa mudança gera metabólitos diferentes do organismo saudável, e por isso, a detecção por COV é possível. Métodos de análise através dos COV são impulsionados, tendo em vista que são menos invasivos que os métodos convencionais. Sob o estado prejudicial das infecções, os metabólitos resultantes do estresse oxidativo aumentam drasticamente, e por sua vez, aumentam também os COV como aldeídos e hidrocarbonetos saturados. Metabólitos como esses são indicadores para o eventual dano tecidual, decorrente da enfermidade e, por isso, também são comuns a outras enfermidades, como demais infecções do trato respiratório e câncer de pulmão. Embora sua presença seja inespecífica ao agravo, as pesquisas indicam que não é a presença ou ausência de determinado componente orgânico volátil que permite o diagnóstico, mas o padrão em que ele se apresenta.

A miscelânea de substâncias tende a divergir entre as doenças, criando um padrão único e identificável, como uma assinatura química da doença. Além disso, por serem gerados do comportamento celular anômalo, células alvos dos agentes infecciosos tendem a ser bem mais abundantes à presença do componente orgânico volátil em questão, como os neutrófilos e células B, nos casos de infecções bacterianas e virais, ou células tumorais, nos casos de cânceres. As alterações podem ser compostionais, como no caso das causadas por influenza, onde diminui a quantidade de colônias comensais e eleva as colônias potencialmente patogênicas. Mas também existem alterações metabólicas, quando não há alteração simbólica na composição das colônias, mas há uma alteração do seu comportamento. Há inclusive gêneros de bactérias que podem servir como

marcadores para influenza, COVID-19 e microbiotas saudáveis. Assim, os autores propõem que os COV associados a COVID-19 são provenientes das alterações de microbiota gerada por ação do agente infeccioso, o Sars-CoV-2 (LICHENSTEIN *et al.*, 2021).

1.3.2. A metabolômica da COVID-19

Estudos recentes mostram que o vírus utiliza sua glicoproteína S1 (SPIKE 1), para se ligar e adentrar células alvo do hospedeiro. A fusão com o componente viral é possível a partir da interação com duas outras proteínas do organismo infectado: A ECA2 (enzima conversora de angiotensina-2), ao qual o vírus se fixa, e a protease transmembranar serina 2, TMPRSS2 , que cliva a proteína de envelope viral e permite a fusão dele com o compartimento endossomal. Assim o vírus atinge o citoplasma. Não coincidentemente, as células com maior quantidade de ECA2 são justamente células do trato respiratório e digestório, já que células caliciformes e ciliadas tendem a ter uma expressão maior dessa proteína. Entretanto, não são exclusivas dessa região, tendo sido documentadas em células cardíacas e renais. Com a TMPRSS2 também não é diferente. Sua expressão costuma ser maior em células do epitélio respiratório superior, e pode ser modulada por fatores como poluição aérea e condições inflamatórias das vias aéreas (asma e atopias) (GENGLER *et al.*, 2020). Já no trato gastrointestinal, ECA2 atua num papel importante de regulação da expressão de peptídeos antimicrobianos, e consequentemente, manutenção da microbiota.

Alguns componentes orgânicos voláteis já foram associados à COVID-19, sendo resultado do metabolismo dos infectados em resposta ao vírus. Estudos apontam que os COV são resíduos do maquinário celular, que juntos compõem uma alquimia de odores característicos do agravo, e por isso se encontram presente em tecidos atingidos pelo agente patológico. Assim sendo, toda infecção que acomete um organismo deverá trazer prejuízos ao seu maquinário celular e levá-lo a produção de metabólitos diferentes dos produzidos por um organismo saudável. A existência de um padrão molecular, hematológico, bioquímico ou imunológico é alvo de pesquisas atuais, e quando se trata de COVID-19, já há alguns consensos. Um estudo realizado com plasma de pacientes sob cuidados intensivos analisou mais de 162 metabólitos de pacientes positivos e negativos para COVID-19 por LC-MS/MS.

Desses, os que mais se destacaram foram a quinurenina e arginina, mais expressas em quadros positivos. Esses resultados fez com que levantassem olhares para as citosinas e a via triptofano-nicotinamida, sendo capazes de distinguir pacientes positivos com 74% de sensibilidade e 75% de especificidade (BLASCO *et al.*, 2020). Em outro estudo, os níveis de triptofano eram menor que 105 µM, enquanto a quinurenina maior que 5.3 µM, o que indicaria uma maior intensidade dessa via que converte triptofano em quinurenina estando ativa em pacientes positivos para a COVID-19 (THOMAS *et al.*, 2020). Além disso, o aumento de lipídios livres (ceramidas, ácido palmitoleico, colesterol, ácido araquidônico, ácido oleico e outros mais), metabolismo do triptofano e aumento da via da quinurenina, foram relatados por pesquisadores ao estudar a metabolômica por trás da COVID-19. Quanto a hiperestimulação do sistema imunológico, os achados mostraram um cenário de leucopenia, trombocitopenia, além de níveis elevados de LDH, CRP, dímero D, PT, troponina, CPK, il-6 e TNF- α (HASAN; SULEIMAN; PÉREZ-LÓPEZ, 2021). A gravidade da COVID-19 está ligada à hiperestimulação do sistema imunológico, que levará a uma tempestade de citocinas desencadeando um impacto sistêmico, podendo levar a danos em diversos órgãos (MANGALMURTI; HUNTER, 2020). O agravamento do quadro leva a danos vasculares, imunopatologias e morte, as alterações metabólicas devem ser intensas e expressivas, podendo ser avaliadas pelo perfil de citocinas do paciente. Pacientes da COVID-19 em sua forma moderada e grave deverão apresentar aumento de citocinas e quimiocinas, tais como: IL-1 (α e β), IL-6, M-CSF, que implica numa alteração do metabolismo de arginina, purinas e triptofano (XIAO *et al.*, 2021). A relação do aumento de metabólitos do triptofano com a infecção por SARS-CoV-2 ainda é estudada, mas estudos anteriores já evidenciaram seu papel no processo inflamatório. Apesar desse aminoácido ter sido bastante descrito por sua via de formação da serotonina e melatonina, uma via bem menos conhecida vem sendo estudada, a via da quinurenina. Cerca de 99% do triptofano não usado na formação de proteína é metabolizado em quinurenina, e sucessivamente, o ácido quinurênico. Além dos efeitos de ambas substâncias no sistema nervoso central, já associadas à catatonia e transtorno de personalidade esquizofrênica, elas possuem um papel importante nas respostas imunológicas e desenvolvimento tumoral (DAVIS & LIU, 2015). Desta forma, pode-se entender seu papel no agravamento da COVID-19, bem como seu aumento de expressão pelo

organismo afetado. Essa alteração criaria um padrão tão único que pode ser diferenciado até mesmo a fase e severidade da COVID-19 (VALDEZ *et al.*, 2022). Nesse mesmo estudo, Valdez foi capaz de analisar por cromatografia líquida de alta precisão (HPLC) alguns dos metabólitos associados ao desenvolvimento da doença no organismo. Esses metabólitos estariam ligados com o metabolismo das carnitinas, corpos cetônicos e ácidos graxos, o que indicaria um aumento das vias lipolíticas durante o período de manifestação da doença. Compreender, a priori, os padrões metabolômicos da doença é fundamental para entender a origem dos componentes orgânicos voláteis que caracterizam tal doença e permitem seu diagnóstico.

Objetivos

Geral:

Revisar literária e sistematicamente a infecção, metabolômica e os componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19, bem como sua possibilidade no uso do diagnóstico por olfação canina e métodos analíticos visando o enfrentamento da pandemia.

Específicos:

- Produzir uma revisão sistemática a respeito dos componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19 baseada frente às orientações internacionais de pesquisa;
- Catalogar os componentes orgânicos voláteis citados pelos autores revisados;
- Desenvolver um artigo de revisão sistemática com os resultados obtidos pelas etapas acima.

METODOLOGIA

A fim de compreender o desenvolvimento da pandemia, foram consideradas como referência as autoridades de saúde que têm prestado uma cobertura assídua desde o começo da pandemia. Os boletins epidemiológicos e o Painel Coronavírus do Ministério da Saúde foram de extrema importância para acompanhar os dados a nível nacional. Ampliando o entendimento, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) foram tidas como referências.

Quanto ao histórico do uso de cães nas mais diversas atividades humanas, foram buscadas dissertações, artigos originais de revisão e relatórios técnicos-científicos que guiaram a fundamentação desde a domesticação desses animais, até o seu uso na segurança e saúde pública, bem como as particularidades éticas, fisiológicas e comportamentais, característica dessa espécie.

Já para o aprofundamento do contágio pelo SARS-CoV-2 e seus efeitos fisiológicos, foram prezadas referências mencionadas pelas autoridades de saúde pontuadas acima, além de artigos publicados e indexados nas bases de dados escolhidas para revisão sistemática e descritas abaixo.

A revisão sistemática foi conduzida em quatro etapas conforme as boas práticas da PRISMA para selecionar os artigos mais relevantes e adequados para a revisão. Essas etapas são as seguintes:

Etapa de busca: Nesta etapa, foram estabelecidos os termos de busca relacionados a "COVID", "COVID-19", "SARS-CoV-2" e "Compostos orgânicos voláteis". A busca automatizada foi realizada utilizando-se operadores lógicos, como "AND" e "OR", para combinar os termos de busca. Foram priorizadas buscas avançadas sempre que possível.

Etapa de triagem: Após a busca automatizada, os resultados foram triados. Nesta etapa, os artigos foram avaliados com base em seus títulos, resumos ou descriptores para determinar sua relevância. Foram mantidos os artigos que possuíam pelo menos um termo relacionado a "COVID" e outro relacionado a "Compostos orgânicos voláteis".

Etapa de avaliação: Os artigos selecionados na etapa anterior foram lidos na íntegra e avaliados de acordo com critérios predefinidos. Durante essa etapa, foram excluídos artigos duplicados e aqueles que não eram originais, como revisões e relatos de caso. Foram incluídos artigos de casuística, corte-transversal e prova de conceito na revisão.

Etapa de inclusão: Na última etapa, os artigos restantes foram discutidos entre os pesquisadores, com o objetivo de manter aqueles com objetivos similares e que contribuissem para a análise. Durante essa etapa, os pesquisadores buscaram chegar a um consenso sobre quais artigos seriam incluídos na revisão final.

Além disso, os dados resultantes da revisão bibliográfica foram mantidos em planilhas do *Google Sheets* e tratados utilizando a linguagem de programação

Python, versão 3.9.16. Os resultados foram visualizados por meio dessas ferramentas e utilizados para a criação de gráficos e tabelas que embasaram o artigo.

REFERÊNCIAS

- BERNA, A. Z.; JOHN, A. R. O. **Breath Metabolites to Diagnose Infection**. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34969107/>>. Acesso em: fev. 3DC.
- BLASCO, H. et al. **The specific metabolome profiling of patients infected by SARS-CoV-2 supports the key role of tryptophan-nicotinamide pathway and cytosine metabolism**. *Scientific Reports*, v. 10, n. 1, 8 out. 2020.
- Boletim Epidemiológico No 1- Boletim COE Coronavírus** — Ministério da Saúde.
- Boletim Epidemiológico No 146- Boletim COE Coronavírus** — Ministério da Saúde.
- Boletim Epidemiológico No 146- Boletim COE Coronavírus** — Ministério da Saúde.
- CATALA, A. et al. **Dogs demonstrate the existence of an epileptic seizure odour in humans**. *Scientific Reports*, v. 9, n. 1, p. 4103, 28 mar. 2019.
- CORNU, J.-N. et al. **Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis**. *European Urology*, v. 59, n. 2, p. 197–201, fev. 2011.
- DAVIS, I.; LIU, A. **What is the tryptophan kynurenine pathway and why is it important to neurotherapeutics?** *Expert Review of Neurotherapeutics*, v. 15, n. 7, p. 719–721, 24 maio 2015.
- EHMANN, R. et al. **Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon**. *European Respiratory Journal*, v. 39, n. 3, p. 669–676, 18 ago. 2011.
- FILIPIAK, W. et al. **A Compendium of Volatile Organic Compounds (COVs) Released By Human Cell Lines**. *Current Medicinal Chemistry*, v. 23, n. 20, p. 2112–2131, 2016.
- GENGLER, I. et al. **Sinonasal pathophysiology of SARS-CoV -2 and COVID -19: A systematic review of the current evidence**. *Laryngoscope Investigative Otolaryngology*, 16 abr. 2020.
- GOMES, D. C. L. DA S.; OLIVEIRA, V. C. M. **O Uso de Cães de Faro de Drogas em Operações de Barreira Policial**. [dspace.mj.gov.br](https://dspace.mj.gov.br/2010), 2010.
- HAG-ALI, M. et al. **The detection dogs test is more sensitive than real-time PCR in screening for SARS-CoV-2**. *Communications Biology*, v. 4, n. 1, 3 jun. 2021.
- HASAN, M. R.; SULEIMAN, M.; PÉREZ-LÓPEZ, A. **Metabolomics in the Diagnosis and Prognosis of COVID-19**. *Frontiers in Genetics*, v. 12, 23 jul. 2021.
- HORVATH, G.; ANDERSSON, H.; NEMES, S. **Cancer odor in the blood of ovarian cancer patients: a retrospective study of detection by dogs during treatment, 3 and 6 months afterward**. *BMC Cancer*, v. 13, n. 1, 26 ago. 2013.
- LICHENSTEIN, M. et al. **Pathophysiology of SARS-CoV-2 Infection in the Upper Respiratory Tract and Its Relation to Breath Volatile Organic Compounds**. *mSystems*, v. 6, n. 4, 31 ago. 2021.
- MAA, E. et al. **Canine detection of volatile organic compounds unique to human epileptic seizure**. *Epiactory Detection of SARS-CoV2-Infected Patients: A One Health Approach*. *Frontiers in Public Health*, v. 9, 21 out. 2021.
- MAIA, Rita de Cássia Carvalho et al. **Canine olfactory detection of SARS-CoV2-infected patients: a one health approach**. *Frontiers in Public Health*, p. 1502, 2021.

MANCILLA-TAPIA, J. M. et al. **Dogs Detecting COVID-19 From Sweat and Saliva of Positive People: A Field Experience in Mexico.** Frontiers in Medicine, v. 9, 1 abr. 2022.

MANGALMURTI, N.; HUNTER, C. A. **Cytokine Storms:** Understanding COVID-19. Immunity, v. 53, n. 1, p. 19–25, jul. 2020.

MALLAPATY, S. **Animal source of the coronavirus continues to elude scientists.** Nature, 18 maio 2020.

MAURER, M. et al. **Detection of Bacteriuria by Canine Olfaction.** Open Forum Infectious Diseases, v. 3, n. 2, 2016.

MENDEL, J. et al. **Preliminary accuracy of COVID-19 odor detection by canines and HS-SPME-GC-MS using exhaled breath samples.** Forensic Science International: Synergy, v. 3, p. 100155, 2021.

RAISOR, M. **DETERMINING THE ANTIQUITY OF DOG ORIGINS: CANINE DOMESTICATION AS A MODEL FOR THE CONSILIENCE BETWEEN MOLECULAR GENETICS AND ARCHAEOLOGY** A Dissertation. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://core.ac.uk/download/pdf/4268672.pdf>>. Acesso em: 23 fev. 2023.

SINGLETARY, M. et al. **A Novel Method for Training the Interdiction of Restricted and Hazardous Biological Materials by Detection Dogs.** Frontiers in Medicine, v. 9, 12 abr. 2022.

SMITH, T. D.; VAN VALKENBURGH, B. **The dog-human connection.** The Anatomical Record, v. 304, n. 1, p. 10–18, 24 out. 2020.

SONODA, H. et al. **Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection.** Gut, v. 60, n. 6, p. 814–819, 31 jan. 2011.

SUN, P. et al. **Understanding of COVID-19 based on current evidence.** Journal of Medical Virology, v. 92, n. 6, 25 fev. 2020.

THOMAS, T. et al. **COVID-19 infection alters kynurenone and fatty acid metabolism, correlating with IL-6 levels and renal status.** JCI Insight, v. 5, n. 14, 23 jul. 2020.

TWELE, F. et al. **Detection of Post-COVID-19 Patients Using Medical Scent Detection Dogs—A Pilot Study.** Frontiers in Medicine, v. 9, 16 jun. 2022.

VALDÉS, A. et al. **Metabolomics study of COVID-19 patients in four different clinical stages.** Scientific Reports, v. 12, n. 1, p. 1650, 31 jan. 2022.

VALLEJO DEGAUDENZI, A. et al. **SARS-CoV-2 Breath Tests Implementation for the Rapid COVID-19 Surveillance:** A Game Changer?- A Review of Existing Data. InterAmerican Journal of Medicine and Health, v. 4, p. 1–6, 23 mar. 2022.

WANG, W.; TANG, J.; WEI, F. **Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China.** Journal of Medical Virology, v. 92, n. 4, 29 jan. 2020.

WILLIAMS, H.; PEMBROKE, A. **SNIFFER DOGS IN THE MELANOMA CLINIC?** The Lancet, v. 333, n. 8640, p. 734, abr. 1989.

WOROBAY, M. et al. **The Huanan Seafood Wholesale Market in Wuhan was the early epicenter of the COVID-19 pandemic.** Science, v. 377, n. 6609, 26 jul. 2022.

XIAO, N. et al. **Integrated cytokine and metabolite analysis reveals immunometabolic reprogramming in COVID-19 patients with therapeutic implications.** Nature Communications, v. 12, n. 1, 12 mar. 2021.

ZHOU, J. et al. **Infection of bat and human intestinal organoids by SARS-CoV-2.** Nature Medicine, v. 26, n. 7, p. 1077–1083, 13 maio 2020.

CAPÍTULO I

Artigo a ser submetido a Revista de Saúde Pública, ISSN: 1518-8787,

Qualis A1 <https://rsp.fsp.usp.br>.

VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS AS BIOMARKERS FROM COVID-19: A
SYSTEMATIC REVIEW

COMPONENTES ORGÂNICOS VOLÁTEIS COMO BIOMARCADORES DA
COVID-19: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA

Biomarcadores da COVID-19

Lucas Vinnicio de Araujo Santana, lucasvinni30@gmail.com, 55 81 98616-1552,
ORCID id 0000-0001-5590-606X.

Anísio Francisco Soares, anisiofsoares@gmail.com, 55 81 99955-6913,
ORCID id 0000-0003-1493-7964.

Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e
Fisiologia Animal, Laboratório de Fisiologia e Cirurgia Experimental

Resumo

Em março de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a pandemia do novo Coronavírus quando o mundo já contava com 118 mil casos, 4,2 mil mortes e 114 países com registros. Com a falta de tratamentos eficazes e a ausência de vacina, a atenção dos cientistas se voltou para o diagnóstico da doença e para formas de prevenir sua transmissão. A infecção por um agente patogênico pode desencadear uma série de alterações no comportamento celular do organismo. Essas mudanças são causadas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro e pela degradação das células infectadas. Compreender as moléculas envolvidas nesse processo é fundamental para o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico que possam ajudar no combate à pandemia. Uma revisão sistemática foi realizada com base nas orientações da *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). Após a aplicação dos filtros, 35 artigos foram selecionados para a revisão. Esses artigos descreveram duas principais abordagens para a detecção dos COV: o uso de cães farejadores e o uso de ferramentas químico-analíticas associadas à inteligência artificial. Os estudos mostraram que a

detecção dos COV pode ser tão eficaz quanto o teste de PCR, que é considerado o padrão-ouro para o diagnóstico da COVID-19. No entanto, a detecção por COV não tem como objetivo substituir o teste de PCR, mas sim complementá-lo em uma abordagem única de saúde. Em resumo, a revisão sistemática demonstrou a eficácia das técnicas de detecção dos COV na identificação da doença. Essas técnicas podem ser valiosas ferramentas no combate à pandemia, especialmente em locais onde o acesso ao teste de PCR é limitado. No entanto, é importante destacar que essas técnicas devem ser utilizadas em conjunto com outras medidas de prevenção, como o uso de máscaras, o distanciamento social e a higiene adequada das mãos.

Descritores: Cães Farejadores; Coronavírus; Diagnóstico; Pandemia; Saúde Única; COV.

Abstract

In March 2020, the World Health Organization (WHO) declared the pandemic of the novel Coronavirus when the world already had 118,000 cases, 4.2 thousand deaths, and 114 countries with records. With the lack of effective treatments and the absence of a vaccine, the attention of scientists turned to the diagnosis of the disease and ways to prevent its transmission. Infection by a pathogenic agent can trigger a series of changes in the cellular behavior of the organism. These changes are caused by host defense mechanisms and the degradation of infected cells. Understanding the molecules involved in this process is essential for the development of diagnostic techniques that can help in the fight against the pandemic. To investigate the relationship between COVID-19 and volatile organic compound (voc) biomarkers, a systematic review was conducted based on the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines. After applying filters, 35 articles were selected for review. These articles described two main approaches for VOC detection: the use of trained dogs and the use of chemical-analytical tools associated with artificial intelligence. Studies have shown that COV detection can be as effective as the PCR test, which is considered the gold standard for COVID-19 diagnosis. However, VOC detection is not intended to replace the PCR test, but rather to complement it in a unique health approach. In summary, the systematic review demonstrated the effectiveness of VOC detection techniques in identifying the disease. These techniques can be valuable tools in the fight against the pandemic,

especially in places where access to PCR testing is limited. However, it is important to emphasize that these techniques should be used in conjunction with other preventive measures, such as the use of masks, social distancing, and proper hand hygiene.

Keywords: Coronavirus; Diagnosis; One-Health Approach; Pandemic; Trained Dogs; VOC.

Introdução

A pandemia do novo Coronavírus foi decretada em 11 de março de 2022 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), pouco mais de dois meses após o agente infeccioso da doença ter sido identificado e quando o mundo já contava com 118 mil casos, 4,2 mil mortes e 114 países com registros. A doença já se alastrava em todos os continentes habitados¹.

Quanto ao vírus, se trata de uma nova estirpe da família Coronaviridae, cujo outros representantes são o MERS-CoV e o SARS-CoV, também responsáveis por epidemias na Ásia e Oriente Médio. Diferente dos anteriores, a nova espécie, nomeada Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2, ou SARS-CoV-2, não se destacava pela mortalidade, mas pela alta taxa de transmissão, que até então era de 2,2². Não há consenso quanto ao reservatório da doença, mas sabe-se que o primeiro contato deve ter ocorrido nas imediações do Mercado de Frutos do Mar de Huanan, em Wuhan, China, que rapidamente se tornou o epicentro da doença³. Uma vez descoberto o agente, cientistas do mundo todo correram contra o tempo buscando alternativas para frear o contágio. Embora os mecanismos de infecção não fossem descritos na época, hoje sabemos que a infecção ocorre a partir da interação da glicoproteína viral spike S1 com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), na membrana celular do hospedeiro⁴. Após a fixação do vírus na membrana, proteases do hospedeiro, como a metaloprotease transmembranar serina 2 (TMPRSS2), furina e elastase, clivam a proteína spike S1, expondo a região interna S2, altamente lipofílica⁵. A coalescência entre o envelope viral com a membrana plasmática permite o encontro do genoma viral com o citoplasma. Atualmente, outra proteína tem sido estudada por apresentar uma interação fundamental com o vírus, a Neuropilina-1 (NRP-1), que pode apresentar um sítio de ligação alternativo para a proteína viral S1⁶. Não coincidentemente, proteínas como

essas são mais expressas em células do trato respiratório e vias superiores do sistema gastrointestinal, áreas essas mais suscetíveis à infecção e aos seus danos posteriores⁴.

Enquanto a esperança de cura ou vacina aparentavam estar distantes, os esforços eram concentrados em meios de diagnosticar a doença e impedir sua transmissão. Inicialmente, testes rápidos de antígeno eram usados para detectar anticorpos IgM e IgG produzidos pelo contato do parasita e hospedeiro, entretanto, com evidências de que a reinfecção era possível e a iminência de novas variantes, os testes de antígeno passaram a ser substituídos por testes moleculares. Com a identificação do genoma viral, métodos moleculares como a *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) e a *Quantitative Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction* (qRT-PCR) foram empregados na detecção do vírus em sua fase ativa, uma vez que atingisse a carga viral suficiente para a detecção a partir da amplificação dos seus nucleotídeos⁷.

O desenvolvimento de uma doença em um organismo saudável, independentemente da natureza do agente patológico, irá implicar numa alteração do seu comportamento celular. Seja pelos mecanismos de degradação, ou pelos mecanismos de defesa do hospedeiro, o maquinário celular passará a se comportar de forma diferente ao que fazia antes. Vias metabólicas, citocinas e quimiocinas já foram correlacionadas com a COVID-19. Aminoácidos como a arginina e triptofano sofreram uma alteração significativa em pacientes infectados, estando ambos relacionados às vias requisitadas durante a inflamação⁸. Em outro estudo, o triptofano e serotonina, neurotransmissor derivado, reduziram, enquanto que a via da quinurenina, outro derivado, foi acrescida⁹. Naturalmente, apenas uma pequena parcela do triptofano é usada como matéria-prima para neurotransmissores como a serotonina e melatonina, a maior parte do triptofano é convertida na quinurenina e derivados, cerca de 95%. Embora isso, essa via pode ser ainda mais maximizada para a obtenção da nicotinamida que subsequentemente se torna nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), uma molécula energética bastante cobiçada durante uma resposta imunológica ávida¹⁰. Outras vias ligadas ao aumento de lipídios livres (ceramidas, ácido palmitoléico, colesterol, ácido araquidônico, ácido oleico e outros mais) também tiveram alterações descritas, podendo estar ligada ao dano celular e a processos inflamatórios⁸.

A mobilização desses aminoácidos, além do metabolismo de purinas, também podem estar vinculados ao aumento de citocinas pró inflamatórias como interleucinas IL-1 α , IL-1 β , IL-6 e o fator estimulante de colônias de macrófagos (M-CSF), comprovadamente super expressas em pacientes com COVID-19⁹. Somam-se a essas citocinas o fator de necrose tumoral (TNF) e o interferon gama (IFN γ), contribuindo para a ideia de hiperestimulação imunológica inata e adaptativa, e uma consequente inflamação sistêmica. O aumento súbito de IL-1, IL-6, IL-12 e TNF está relacionado com a mielopoiese de neutrófilos e monócitos, que respondem aos padrões moleculares associados a patógenos (PAMP) e padrões moleculares associados ao dano (DAMP) secretando tais citocinas. E, uma vez atraídos pelas quimiocinas e citocinas, o macrófago (monócito após a diapedese) pode ter sua função estendida pela produção contínua de IFN γ e TNF, perpetuando um perfil Th1, inflamatório. Por sua vez, a produção exacerbada de IL-2, IFN γ e TNF advém das células T em respostas aos抗ígenos apresentados¹¹. Concomitantemente ao aumento dessas citocinas pró-inflamatórias, a interleucina IL-10, fator de inibição de outras citocinas, tem suas concentrações elevadas em pacientes da COVID-19, indicando uma tentativa de reversão do quadro inflamatório instaurado⁹. Esse quadro confere um padrão metabólico distinto entre pacientes positivos e negativos, possibilitando sua detecção¹².

Todavia, esses metabólitos não se restringem ao ambiente interno do paciente, inúmeras substâncias derivadas vêm à superfície na forma de componentes orgânicos voláteis (COV). Esse não é um fato exclusivo da infecção pelo SARS-CoV-2, muitos outros agravos já tiveram perfis bioquímicos de COV associados a si. Originalmente, esses compostos foram descobertos accidentalmente em um melanoma maligno, tendo sido percebidos por um cão de estimação¹³. Após isso, cães treinados foram usados para identificar outras neoplasias malignas, podendo identificar câncer de próstata¹⁴, colorretal¹⁵, pulmão¹⁶ e ovário¹⁷. Também foram comprovados como uma alternativa no diagnóstico de doenças infecciosas, como infecções bacterianas por *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus aureus*¹⁸, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Helicobacter pylori*¹⁹. Infecções virais, como a diarréia viral bovina (BVDV)²⁰ e influenza. Além de infecções fúngicas e protozooses, como a aspergilose e malária, respectivamente¹⁹. Até mesmo pacientes epiléticos puderam ser identificados através da olfação canina,

podendo detectar amostras de suor colhidas durante a atividade ictal e interictal, indicando a existência de um odor único e característico^{21,22}. Apesar das diferentes origens patológicas onde a detecção a partir de COV foi testada, o cerne da estratégia é semelhante. E embora possam haver componentes orgânicos voláteis intrínsecos ao agente causador, não são a eles que se atribui essa assinatura bioquímica do agravo. A subversão do estado saudável leva a mudanças fisiológicas, onde vias bioquímicas não convencionais são mobilizadas, seja pelas estratégias de defesa do organismo afetado, ou pelas próprias ações debilitantes da doença, manifestadas nas formas de sinais e sintomas. O comportamento anômalo celular leva a produção de metabólitos diferentes do organismo saudável, produzindo rastros bioquímicos que podem indicar a doença nos mais diversos fluidos humanos. Alguns desses metabólitos podem, inclusive, ser voláteis, e tomar a atmosfera quando presentes. E, ainda que passem despercebidos pelo olfato humano, podem ser notados pelo olfato canino, 10.000 a 100.000 vezes mais apurado que o nosso²⁴ ou ferramentas analíticas.

Apesar do diagnóstico por RT-PCR ter sido amplamente empregado, ainda existem pontos desfavoráveis nesse método. O teste de RT-PCR é realizado com amostras colhidas através do swab de nasofaringe, que exige um certo grau de invasibilidade e pode afastar pacientes mais sensíveis ao teste. Além disso, o teste requer equipamentos e operadores específicos, o que eleva seu custo e o tempo de realização. O tempo gerado entre a realização do teste e a obtenção de seu resultado pode criar uma janela de infecção que não será coberta pelo teste. E à medida que a metabolómica da doença era desvendada, surgiu a possibilidade do diagnóstico através do rastreamento de metabólitos ligados à infecção, principalmente os componentes orgânicos voláteis por terem uma coleta bem menos invasiva. O conhecimento de quais moléculas compõem esse perfil bioquímico dos COV também é crucial para o aprimoramento de técnicas de treinamento canino e análise química, impactando diretamente na forma como lidamos com a pandemia.

Métodos

Revisão Sistemática

Visando compreender a relação da COVID-19 com seus biomarcadores expressos como componentes orgânicos voláteis, uma revisão sistemática baseada

nas boas práticas orientadas pela *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA), foi procedida através das seguintes etapas.

Etapa de busca

Para revisão sistemática, uma busca automatizada (filtradas pelos algoritmos de busca das próprias bases) foi realizada nas seguintes bases de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), Cochrane, Google Scholar, PubMed, Scielo e ScienceDirect. A busca automatizada foi realizada com as etiquetas de pesquisa: “COVID”, “COVID-19” ou “SARS-CoV-2” e “Compostos orgânicos voláteis”, “*Volatile organic compounds*” ou “COV”, priorizamos uma busca avançada, quando oferecido pela plataforma online, a partir dos operadores lógicos “AND” e “OR”. Desta forma, foi estabelecido um grupo de termos similares a “COVID-19” mediados pelo operador “OU”, e um grupo de termos similares a “*Volatile organic compounds*”, também mediados entre si pelo operador “OU”. Os dois grupos de termos foram mediados entre si pelo operador lógico “AND”. Dessa forma foi garantido que haveria ao menos um termo similar de cada grupo e que obrigatoriamente deveriam estar relacionados um com outro. Não foi necessário restringir as datas de início das publicações, visto que se iniciam juntamente com a pandemia. Quanto à data limite, as publicações foram consideradas até a última semana de fevereiro de 2023.

Etapa de triagem

As publicações resultantes da busca automatizada, foram avaliadas numa busca inteligente (a partir da ótica e compreensão humana), tendo prosseguido para a próxima fase, artigos que contivessem ao menos um dos termos buscados similares a “COVID” e outro similar a “*Volatile organic compounds*” em seu título, resumo ou descritores. Dessa forma, foi garantido que os artigos seguintes tratariam de componentes orgânicos voláteis da COVID-19.

Etapa de avaliação

Nessa etapa, os artigos foram lidos em sua completude e foram analisados perante critérios de exclusão. Foram excluídos artigos duplicados (que constavam em mais de uma base de dados) e publicações que não fossem artigos originais (revisões, estudos de caso e relatórios). Os demais seguiram para a etapa de inclusão.

Etapa de inclusão

Na última etapa foi realizada uma contextualização entre os artigos e foram incluídos artigos de casuística, corte-transversal e prova de conceito na revisão.

Análise estatística

Os dados resultantes da revisão bibliográfica foram mantidos em planilhas do *Google Sheets*, *Google®*, foram tratados em *Python*, versão 3.9.16 (*Python Software Foundation*, Beaverton, USA), e visualizados com auxílio dessa mesma linguagem ou do *Google Sheets*.

Resultados

Metanálise

Seis bases de dados foram escolhidas para fazer a busca automatizada com os termos escolhidos e mediadas pelos operadores lógicos pertinentes. Ao todo, 676 resultados foram compatíveis com a busca e seguiram para etapa de triagem. Durante a triagem, 612 artigos não corresponderam aos critérios da busca inteligente, sendo eliminados. As 64 publicações restantes estavam distribuídas da seguinte forma: 47,6% (40) foram obtidas da plataforma BVS, 33,3% (28) da PubMed, 10,7% (9) do Google Scholar, 6% (5) da ScienceDirect, 2,4% (2) da Cochrane Nenhuma publicação foi selecionada da plataforma Scielo.

A assertividade dos mecanismos de busca foi definida como a razão entre os resultados realmente aproveitados e os resultados sugeridos pela plataforma. A plataforma inglesa Cochrane teve a busca mais assertiva, com 50% das publicações sendo acatadas, seguido pela base de dados brasileira BVS (24,1%), PubMed (16,8%), Google Scholar (13,6%), ScienceDirect (2,3%), e por fim, Scielo (0%).

Na etapa seguinte, todo conteúdo dos registros triados foi avaliado conforme os critérios de exclusão. Muitos artigos foram oferecidos por, pelo menos, mais de uma base de dados, somando 36 duplicatas que foram excluídas, mantendo apenas uma de suas cópias. Os 48 artigos foram analisados, e sete deles foram excluídos pelo critério de originalidade, restando 41 artigos originais aptos para a etapa de inclusão.

Dentre os 41 artigos, 4 eram do ano de 2020, 13 artigos do ano de 2021, 19 do ano de 2022 e 5 artigos originais publicados no primeiro bimestre de 2023. Como esperado, não foram sugeridos artigos anteriores à pandemia. Isolando o primeiro

bimestre dos seus respectivos anos, o primeiro bimestre de 2020 (anterior a pandemia) não possui publicações, comprehensivelmente. O primeiro bimestre de 2021 possui uma publicação, e o de 2022, duas publicações. Seguindo a tendência dos anos anteriores, a regressão linear estima um total de 23 publicações de artigos originais sobre COV e COVID-19 em 2023.

Na última etapa, foram aplicados os critérios de inclusão. Optou-se por incluir artigos que avaliassem a detecção dos COV associados a COVID-19. Assim, foram descartados 4 artigos que não contemplavam a revisão, como artigos de proposta de método ou que, mesmo após os filtros de busca, tratassem de outros temas. Um artigo foi rejeitado por ausência de informações (número amostral não informado) e outro por ser um *preprint*, ao qual a publicação do mesmo estudo já havia sido incluída. Finalmente, após todos os filtros automatizados e humanos, 35 artigos foram selecionados para compor a revisão sistemática (Figura 1).

Detecção dos componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19

Dos artigos selecionados, duas principais abordagens foram percebidas: os que utilizam cães treinados para detecção dos componentes orgânicos voláteis e os que utilizam ferramentas químico-analíticas, por vezes associados à inteligência artificial para detecção. Além disso, três autores testaram suas amostras por ambas abordagens, totalizando 13 registros a partir da detecção canina e 25 registros por meio de métodos analíticos (Figura 2).

Detecção por olfação canina

As amostras foram coletadas a partir de máscaras usadas, camisas usadas, meias usadas, urina, saliva, gazes cirúrgicas ou algodão com suor das axilas, face e pescoço. Amostras de suor foram as mais utilizadas durante os treinamentos e testes caninos, 84,7% da fração utilizaram amostras de suor, seja exclusivamente ou juntamente com amostras de outra natureza. Essa predileção pode ser explicada por se tratar de uma amostra não infectante, eliminando a necessidade de inativação do vírus. Já as amostras que continham saliva foram coletadas a partir de máscaras usadas, algodão ou tubos de coleta. Nesse caso, vírus precisou ser inativado a partir de luz UV-C (10min)³⁶, calor (95°C, 5min)²⁷, betapropiolactona (BPL)³³ ou membrana de fluoropolímero, permeável ao odor²⁸. Já para a inativação do vírus em amostras

de urina, os pesquisadores usaram detergente NP-40 e calor (95°C, 5min)²⁷ ou betapropiolactona (BPL)³³. Os métodos usados garantem apenas a inativação viral, sem alterar o odor das amostras. O armazenamento da amostra foi realizado com resfriamento contínuo abaixo de -80°C, técnica aplicada para as amostras de suor, saliva e urina.

Cães da raça pastor-alemão, pastor-belga, pastor-holandês, labrador, golden-retriever e spaniel foram usados na detecção, podendo ser veteranos -treinados anteriormente para drogas, explosivos e afins, ou sem experiência prévia. O tempo médio de treinamento requerido para que os cães fossem postos em prática foi de 10 semanas, tendo sido o menor registro de 8 dias de treinamento e o maior de 31 semanas de treinamento. Para muitos estudos, os autores consideravam os cães prontos para os testes no momento em que os acertos atingem a estimativa esperada pelo padrão ouro de diagnóstico, nesse caso 80%, durante as rodadas de treinamento.

Cruzando o tipo de amostras e os resultados obtidos, a sensibilidade geral foi de 87,82% (\pm 16,62) e a especificidade de 94,86% (\pm 4,3). Dentre as amostras, as de saliva apresentaram a maior sensibilidade média, 91,08% (\pm 7,57), com especificidade de 96,04% (\pm 2,55). As amostras de urina, por sua vez, alcançaram 83% de sensibilidade (\pm 16,97) e 97% de sensibilidade (\pm 2,83), a maior dentre as médias por amostra. Já as amostras de suor, isoladamente, atingiram uma sensibilidade média de 89,89% (\pm 10,94) e especificidade de 94,07% (\pm 5,06), entretanto um dos estudos com amostras de suor atingiu o valor máximo de sensibilidade³², e outro, o valor máximo de especificidade²⁹.

No estudo de Essler *et al.*²⁷ (2021), onde os cães foram treinados para amostras de saliva e urina inativadas, ao serem apresentados amostras novas os cães mostraram ser capazes de reconhecer amostras onde o vírus ainda se encontrava ativo. Entretanto, após os testes, houve limitações em reconhecer amostras fora do conjunto de amostras obtidas (n= 34), indicando que um amostral maior seja necessário para a etapa de treinamento.

Jendrny *et al.*²⁸ (2021), em seu estudo, utilizaram amostras de saliva inativada e não inativada durante a fase de treinamento, e durante a fase de teste apresentaram amostras de suor e urina. Mesmo sem o treinamento para esse tipo de amostras, os cães foram capazes de detectar amostras infectadas com 95% de

sensibilidade e 98% de especificidade para urina, e 91% de sensibilidade e 94% de especificidade para suor. Seus resultados apontam que há um padrão de COV global que é expresso nos mais diversos fluidos do organismo infectado, possibilitando uma generalização entre eles.

A generalização também foi testada de uma variante para outra, por Mutesa *et al.*,³¹ (2022). Na primeira etapa dos estudos, os cães atingiram uma sensibilidade e especificidade de 82,45% (\pm 7,45) e 97,25% (\pm 1.15), respectivamente, ao distinguir casos suspeitos durante a onda da variante Delta. Na segunda fase, os cães foram apresentados a amostras que coincidiam com a onda da variante Omicron, e a partir do mesmo treinamento com as amostras de variante Delta, a sensibilidade despencou para 39,05% (\pm 2,45) e a especificidade permaneceu acima de 95%. Embora os cães fossem capazes de reconhecer as amostras da variante Omicron sem treinamento prévio, o estudo mostrou que os cães devem ser treinados com frequência para que sua eficiência não seja impactada pelo surgimento de novas variantes.

Dois estudos com cães dispuseram-se a testar a hipótese que os COV permaneciam remanescentes e distinguíveis após a recuperação da COVID-19 e sob o quadro de pós COVID. Inicialmente, Grandjean *et al.*,³¹ (2022), observou que das 45 amostras de suor extraídas de pacientes com o quadro de COVID longa, os cães puderam indicar 23 delas. Apesar dos resultados estarem abaixo do esperado, o estudo trouxe à tona a possibilidade. Então, Twele³³ descreveu que quando o confronto era entre pacientes com o quadro de pós COVID e pacientes negativos, os cães indicavam com 92,86% de precisão como positivos para COVID. Já quando se colocava pós COVID x COVID aguda, cães só indicavam 3,96% das amostras de pós COVID. Havendo uma predileção entre amostras da fase aguda em detrimento das amostras de pós COVID. Esse resultado indicaria que os COV da COVID-19 permanecem no quadro longo da doença, no entanto, não semelhante a um quadro agudo atual, talvez com COVs menos intensos, ou novos componentes, mas diferente do quadro inicial.

Detecção por análise química

Dos 25 que fizeram emprego dos métodos de detecção químico-analíticos, 11, se propuseram a descrever quais eram as moléculas que conferiam essa

assinatura bioquímica às amostras de pacientes infectados (Tabela 3). Houve 14 moléculas mencionadas por mais de um autor (Figura 3).

Nas análises químico-analíticas houve uma predileção por amostras de hálito, correspondendo a 80% isolada e 8% em conjunto com amostras de suor e saliva. As amostras de hálito representam sítios *on-line* dos compostos orgânicos voláteis, sendo resultado direto das áreas mais afetadas pela infecção, nesse caso, vias aéreas. Após esse tipo de amostra, vem as amostras de suor, isoladas em 8% e acompanhadas por saliva e hálito em 8%. Por fim, segue as amostras coletadas a partir de cultivo de células infectadas pelo patógeno. Esse resultado pode estar atrelado ao fato de que em casos de cultivos não seja possível avaliar os COV advindos da interação tecidual, orgânica e sistêmica do hospedeiro com o vírus. Apesar disso, o estudo deixa claro que parte dos COV são gerados por células infectadas, possibilitando seu diagnóstico⁴⁰.

Sobre as ferramentas analíticas, no geral, são compostas por um aparelho para separar os analitos e outro para identificar. Para a separação podem ser considerados a cromatografia gasosa (GC), cromatografia gasosa bidimensional (GCxGC), microextração em fase sólida (SPME) coluna multicapilar (MCC), dentre outros. Já na identificação, por vezes foi empregado a espectrometria de massa (MS e IMS), espectrometria de tempo de voo (TOF-MS) e a reação de transferência de próton (PTR).

Sobre a interpretação dos espectrogramas, observou-se sendo feita por especialistas (41,67%) ou inteligências artificiais treinadas a partir de aprendizado de máquina (58,33%). Dentre os quatro artigos que propuseram a detecção de COV por análise química em 2023, três utilizaram modelos de aprendizado de máquina para o diagnóstico, e o único que não usou apontou essa ausência como uma das limitações do estudo, afirmando que seu uso poderia conferir mais acuidade e estabilidade aos resultados. O fato pode ser visto como uma consolidação dos modelos de diagnósticos gerados por inteligência artificial no diagnóstico dos componentes orgânicos voláteis da COVID-19.

A sensibilidade e especificidade média para os trabalhos que se propuseram a distinguir pacientes positivos e negativos foi de 93,67% (\pm 6,40) e 88,37% (\pm 14,74), respectivamente. Ao cruzar os resultados com a natureza das amostras,

amostras de suor apresentaram sensibilidade e especificidade de 90,9% (\pm 12,87) e 84,85% (\pm 21,43) e dois registros. Já as amostras exclusivamente de hálito, a sensibilidade média atingiu 93,41% (\pm 5,49) e a especificidade 87,79% (\pm 14,61) e 17 registros. Por fim, no único trabalho que avaliou a detecção através de amostras coletadas de cultivo celular, a sensibilidade foi de 98,9%, e a especificidade foi de 100%. Em quatro estudos a sensibilidade atingiu o pico de 100%^{34, 44, 45, 53}, sendo um deles com amostras de suor e os outros três, hálito. A especificidade, por sua vez, também atingiu seu pico em quatro estudos, um com amostras de suor³⁴, outro de células⁴⁰ e dois que empregaram amostras de hálito^{54, 57}. Apenas um estudo atingiu o pico em ambos parâmetros, tendo feito uso de amostras de suor coletadas de camisas usadas por voluntários com suspeita de COVID-19³⁴. Em contrapartida, um outro estudo que também usou amostras de suor, obteve a menor sensibilidade registrada, 81,8%³⁹. Quanto à menor especificidade, ficou com um dos estudos que utilizou amostras de hálito, 54%⁵⁶.

À medida que o diagnóstico por análise química foi possível, estudos buscaram compreender se o perfil de componentes orgânicos voláteis da COVID-19 era exclusivo dessa doença, ou compartilhado por outras doenças que acometem o trato respiratório. Ruszkiewicz et al.⁴²(2020) analisou amostras de hálito colhidas de pacientes com asma, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), influenza, pneumonia, condições cardíacas e, é claro, COVID-19. Apesar da sintomatologia das doenças serem parecidas, pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 puderam ser diagnosticados com sensibilidade de 82,4% e especificidade de 75%. Chen et al.³⁸ (2021) também comparou os COV advindos de pacientes com COVID-19 com os de pacientes acometidos por outras infecções respiratórias (IR), marcando 88% (\pm 2) de sensibilidade e 100% de especificidade (variações referentes ao modelo de aprendizado de máquina usado). Ao tentar distinguir COVID-19 de outras IR, Nazareth et al.⁵²(2022), também alcançou valores altos, 80% e 88% de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Não obstante, o estudo ainda foi capaz de prever com sensibilidade de 62% e especificidade de 80% os pacientes de COVID-19 que viriam a requerer tratamento intensivo via pressão positiva contínua nas vias aéreas (CPAP). No geral, em todos três estudos a sensibilidade se manteve acima de 80%. A especificidade média nos três estudos foi de 87,67% (\pm 9,54), entretanto, com aplicação de inteligência artificial, Chen³⁸ atingiu o valor máximo de 100%.

Em seu estudo, Sharma⁴³ avaliou se os COV permaneceram idênticos entre uma variante e outra, e se o diagnóstico ainda era possível. A primeira fase do estudo ocorre durante a onda da variante Delta onde a detecção por GC-MS portátil atinge uma sensibilidade de 92,7% e especificidade de 95,5%. Mas, ao utilizar a mesma configuração durante a onda da variante Omicron, a sensibilidade despenca para 60,4%. Os resultados indicam que houve uma alteração no padrão de componentes orgânicos voláteis de uma variante para outra, provavelmente causada por uma mudança na resposta humana à nova variante. Uma nova calibração é feita com novas amostras, e atinge uma sensibilidade de 88,7% e sensibilidade de 91,7%. As variantes, quando comparadas entre si, a sensibilidade e especificidade foram de 92,7% e 90,6%, respectivamente. Cinco COV foram identificados como principal alteração para essa distinção entre variantes (2,2,4-trimetilheptano, 2,2-metiloctano, decano, metildecano e um COV indefinido). Por fim, para entender se era possível a distinção entre qualquer tipo de variantes e amostras negativas, foi realizado uma nova calibração usando amostras das variantes Delta, Omicron BA.1 e Omicron BA.2. Dessa vez, a sensibilidade foi de 89,4% e especificidade de 91%. Desta forma fica claro que é possível o diagnóstico entre variantes, embora seja desejável que calibrações sejam feitas com frequência para manter os resultados eficientes, similarmente ao que concluiu Mutesa³¹ utilizando cães.

O primeiro estudo a avaliar a persistência de COV após a recuperação foi realizado por Zamora-Mendoza⁵⁷ (2021). A partir de amostras de hálitos de pacientes sofrendo de COVID-19 ativa, pacientes com o quadro de pós COVID e voluntários saudáveis, os autores performaram um diagnóstico com 96,7% de sensibilidade e 100% de especificidade entre pacientes com COVID ativa e o grupo controle. Para a surpresa dos pesquisadores, ao comparar o diagnóstico entre pacientes no quadro de pós COVID e o grupo controle, o diagnóstico ainda era possível com 97,6% de sensibilidade e 100% de especificidade, indicando a permanência do perfil bioquímico. Resultados semelhantes também foram obtidos por Woollan et al.⁴⁴(2022), que acompanhou pacientes durante a fase ativa da doença e dois meses após sua recuperação. Os pesquisadores observaram uma redução de COV, e uma alteração nos grupos químicos. Durante a fase ativa da infecção, predominavam terpenos, cetonas e aldeídos, já após recuperados, ésteres e alcanos, mas ainda assim o diagnóstico ainda era possível. E os estudos foram

além, mostrando que era possível o diagnóstico de pacientes com o quadro de pós COVID com ou sem dano pulmonar apenas por amostras de hálito, obtendo a sensibilidade de 88,9% e a especificidade de 96,9%⁵⁸.

Vantagens e Desvantagens

Finalmente, os estudos revelaram que ambas as abordagens são eficazes, atingindo sensibilidade e especificidade média acima de 80%. Comparando entre si, a detecção químico-analítica obteve uma maior sensibilidade, 93,67% (\pm 6,4), enquanto que a detecção por olfação canina, 87,82% (\pm 10,62). Quanto a especificidade, o resultado se inverte, sendo a maior especificidade atribuída ao teste com cães, 94,86% (\pm 4,3) e 88,37% (\pm 14,74) para a análise química. Para a COVID-19, é mais desejável uma alta especificidade mesmo que isso impacte em uma sensibilidade ligeiramente mais baixa. Isso se deve ao fato de que a especificidade determina os resultados negativos que realmente não apresentam a doença, reduzindo a frequência de falsos negativos. E no caso da COVID-19, um falso-negativo é bem mais prejudicial que um falso-positivo, visto que pode conferir ao infectado uma falsa sensação de proteção, arriscando outras pessoas verdadeiramente não infectadas.

Para Gokool³⁴, que utilizou amostras recolhidas de camisas usadas, as duas metodologias possuem vantagens e desvantagens próprias. A detecção pelos instrumentos químico-analíticos associados à inteligência artificial obteve uma pontuação perfeita de 100% para sensibilidade e especificidade, entretanto, houve dificuldade para estabelecer um protocolo que ignorasse as interferências químicas do meio, como fibras orgânicas e sintéticas na amostra. Os cães, por sua vez, eram capazes de se ater ao perfil químico dos COV, ignorando os demais estímulos presentes, porém seu comportamento é sensível a alterações ambientais, comportamentais e fisiológicas. O tempo para desenvolvimento da técnica em ambos os casos apresentou vantagens e desvantagens. Ao todo, foram necessárias 36 semanas de treino e teste até que os cães fossem postos em prática, enquanto que a técnica analítica foi desenvolvida em 16. Entretanto, o tempo de treinamento era compensado, visto que para diagnosticar cada amostra era requerido 25h em HS-SPME-GC-MS, enquanto um único cão era capaz de fazer em 10min. Vale ressaltar que apesar dos casos de COVID-19 serem raros, ainda são possíveis. Por

isso, pode ser necessário etapas de inativação viral ao se trabalhar com cães farejadores, podendo aumentar o tempo do protocolo.

Em ambas as metodologias foi descrita a possibilidade do diagnóstico entre variantes e de pós COVID, mas foi reforçado pelos estudos, treinamentos e calibrações frequentes, para manter as metodologias atualizadas. O tamanho da amostra também foi outra limitação descrita. Apesar de todos os artigos atingirem números de voluntários suficientes para manter o intervalo de confiança em 95%, apenas 10 estudos tiveram mais de 500 participantes, e somente 3 tiveram mais de 1000. Por outro lado, os estudos foram capazes de cobrir uma pluralidade étnica, e até o momento, não foram encontradas diferenças genômicas que possam impactar nos resultados obtidos.

Houveram momentos em que o diagnóstico por COV sobrepujou o diagnóstico feito por RT-PCR. No estudo de Maia *et al.*²⁹(2021), os dois cães farejadores apontaram um dos pacientes como positivo, embora seu teste de PCR fosse negativo. Então os autores contataram o paciente e realizaram um novo teste sorológico, que dessa vez revelou anticorpos para COVID-19, anteriormente inexistentes. A detecção olfativa canina foi capaz de identificar um paciente infectado que foi testado fora da janela de detecção do vírus pelo teste de PCR, contornando o falso-negativo. Já no estudo de Chen *et al.*³⁸ (2021), que utilizou o nariz eletrônico BreathSpec® em conjunto com modelos de aprendizado de máquina, percebeu que a inteligência artificial mal conseguia distinguir entre os COV de alguns pacientes diagnosticados por PCR como negativos. A princípio, os autores pensaram se tratar de um erro no modelo de aprendizado, entretanto, após a primeira semana, o teste de PCR foi refeito e dessa vez confirmou o diagnóstico previsto pelos softwares. Assim, os autores puderam concluir que embora a carga viral ainda não fosse suficiente para ser detectada pela PCR, já era possível aferir seus componentes orgânicos voláteis. Por fim, Rodriguez-Aguilar *et al.*⁵³(2021) encontrou algo similar. Ao realizar testes de RT-qPCR e análises de hálito por Cyranose® 320 em 30 voluntários, os testes de PCR apontaram três positivos assintomáticos e 27 negativos, no entanto, a análise de COV indicava que haviam outras três pessoas positivas. Ao refazer ambos os testes, descobriu-se que das três, duas haviam recebido um falso-negativo pelo teste de RT-qPCR e uma recebeu um falso-positivo pela análise de hálito.

Discussão

O estado de organismo doente e saudável altera o comportamento não só das células do próprio organismo, mas também da microbiota ao qual está associado (principalmente, intestinal e das vias respiratórias). Essa mudança gera metabólitos diferentes do organismo saudável, e por isso, a detecção por COV é possível¹⁹. Métodos como esse são impulsionados tendo em vista que são menos invasivos que os métodos convencionais. Sob o estado prejudicial das infecções, os metabólitos resultantes do estresse oxidativo aumentam drasticamente e, por sua vez, aumentam também os COV como aldeídos e hidrocarbonetos saturados, já tendo sido descritos como indicadores para o eventual dano tecidual decorrente da enfermidade. Demais agravos já tiveram um perfil bioquímico traçado, como infecções do trato respiratório e câncer de pulmão. Esse histórico realça o futuro promissor para entender os COV que se manifestam nos três estágios da COVID-19: Infecção primária, fase pulmonar e fase hiper inflamatória. A primeira fase é caracterizada pela replicação do agente infeccioso, principalmente no trato respiratório superior, e quando há sintomas, são moderados. Já na fase pulmonar, respostas imunológicas são tomadas pelo hospedeiro enquanto o agente viral se estende para o trato inferior, intensificando os sintomas. Na última fase, o organismo entra num estado hiper inflamatório devido a tempestade de citocina, atacando todo o organismo e levando à falência de órgãos⁵⁹. Embora a presença de COV como esses seja inespecífica ao agravo, as pesquisas indicam que não é a presença ou ausência de determinado componente orgânico volátil que permite o diagnóstico, mas a composição em que ele se apresenta. A miscelânea de substâncias tende a divergir entre as doenças, criando um padrão único e identificável, como uma assinatura química da doença. Além disso, por serem gerados do comportamento celular anômalo, células alvos dos agentes infecciosos tendem a ser bem mais abundantes à presença do componente orgânico volátil em questão, como os neutrófilos e células B, nos casos de infecções bacterianas e virais, ou células tumorais, nos casos de cânceres. Muito possivelmente, a maior razão por trás da gama de COV identificados é que parte deles podem se alterar dependendo da resposta imunológica implementada pelo organismo. A idade é um fator determinante para como essa resposta irá se apresentar, como explicita Berna et

al³⁷(2021) ao avaliar amostras de hálitos recolhidas na ala pediátrica e comparar com o perfil de COV de adultos onde a doença tende a ser mais preocupante. Duas cetonas foram encontradas acima do esperado em pacientes adultos, propanona e 2-butanona, enquanto que em pacientes pediátricos, seus níveis estavam normais. Outro fator, talvez o mais importante, é a gravidade da doença instaurada no paciente. Ao acompanhar o processo de recuperação de pacientes da COVID-19, Woollan⁴⁴ percebeu um padrão na composição de COV dos pacientes enquanto estavam sofrendo da doença e após recuperados. Durante a fase ativa, predominam conglomerados de terpenos, cetonas e aldeídos, grupos químicos bastante associados aos processos de morte celular e desestabilidade da membrana plasmática, típicos de um processo inflamatório. Contudo, mesmo após a recuperação, conglomerados de alcanos e ésteres permaneciam presentes, indicando que mesmo após os testes de PCR se estabilizarem como negativo, um processo inflamatório permanecia latente. Outras correlações entre os COV e a severidade podem ser traçadas a partir do estudo de Sharma⁴³, que coletou amostras de hálito coincidentes com as ondas das variantes Delta (2021) e Omicron BA.1 e BA.2 (2022). A presença de alcanos como 2,2,4-trimetilheptano, 2,2-metiloctano, decano, metildecano exclusivamente em amostras de Omicron, coincide com a attenuação na severidade da variante Delta para sua sucessora, a Omicron⁶⁰. Já Ruszkiewicz⁴² justificou o etanal, octano e 3-metilheptano contido em suas amostras como resultado da peroxidação lipídica e o metanol como advindo da microbiota ventral, que age sobre frutas e vegetais, além da degradação do aspartame e carboximetilésteres, concordando com a afirmação de Lichtenstein⁵⁹ e Berna¹⁹ sobre a importância da microbiota no perfil de componentes orgânicos voláteis. Para Grassin-Delyle⁴¹, o aldeído nonanal, encontrado por ele e Berna³⁷, representa um marcador do estresse oxidativo e de destruição da membrana plasmática decorrente dos processos de morte celular. Apesar da severidade do quadro em que a doença se apresenta interferir no perfil de COV, a sua detecção foi possível em todos os seus estágios, desde os casos assintomáticos até os quadros de pós-COVID, superando o teste de RT-PCR nas primeiras semanas de desenvolvimento da COVID-19^{38, 53}.

Alguns autores também avaliaram seu uso em campo, simulando um cenário real. Maurer³⁰ *et al.* (2022), selecionou um dos cães com alta performance para

realizar diagnósticos em tempo real em um hospital do Havaí, alcançando 96% de sensibilidade e 100% de especificidade (US). Sendo um dos primeiros estudos a introduzir cães treinados para o diagnóstico de COVID-19 em campo aberto, Mancilla-Tapia et al.⁶¹(2022) apresentou gazes com suor ou saliva recém colhidas de casos suspeitos, simulando uma situação em que os cães farejassem os COV em suas vestimentas. Apesar do curto tempo que essas gazes ficaram em contato com o portador das amostras permitido pelas autoridades de saúde, houveram cães a superar 80% de sensibilidade e 95% de especificidade. Já Mendel³⁶, levou cães para inspecionar escritórios com histórico de casos e os cães foram capazes de rastrear pertences de funcionários que logo depois foram diagnosticados positivos via RT-PCR. Embora ainda não tenham sido testados instrumentos de análise química em campo, Sharma⁴³ e Xue⁴⁵, utilizaram GC-MS portáteis e Leong⁵¹ usou sensores SERS com resultados em menos de cinco minutos, indicando uma evolução nos últimos anos. Provavelmente, a maior dificuldade do uso dessas ferramentas em campo, seja a contaminação das amostras e as possíveis interferências.

Sakr et al.⁶²(2021) ao afirmar que a detecção por olfação canina dos componentes orgânicos voláteis é viável, destaca que três recomendações devem ser seguidas. Primeiro, a única distinção entre as amostras positivas e negativas deve ser o perfil bioquímico ao qual o olfato canino é sensível, para que durante o treinamento os cães não se atenham a outra característica. Segundo, a preparação da amostra deve ser padronizada e controlada, para que não haja contaminantes que gerem interferências. E por último, utilizar muitas amostras de um mesmo indivíduo ou de um grupo limitado, pode induzir os cães a vícios de detecção durante o treinamento, como foi experienciado por Essler²⁷ que, após um treinamento extenso com o mesmo amostral, percebeu que os cães não eram mais capazes de detectar amostras fora do conjunto predefinido. Exceto por esse caso, todos os outros trabalhos cumpriram as recomendações levantadas. Meller⁶³ também aponta outras considerações no uso de cães na detecção de COVID-19. Para a escolha dos cães, seu histórico de treinamento, comportamento e fisiologia devem ser levados em conta. Cães, como animais sencientes possuem personalidades e experiências próprias, estando suscetíveis a fatores ambientais e comportamentais que podem impactar na sua eficiência durante os testes, e por isso, há uma dificuldade na padronização dos métodos. Apesar de não haver uma

padronização, é consenso que devem ser treinados mediante reforço positivo e jamais ultrapassando os limites da espécie, zelando pela sua integridade física e mental. Assim, também deve ser evitado o uso de amostras infectantes, já que cães também podem ser alvo da infecção por SARS-CoV-2, sendo sugerida a substituição de amostras ou a inativação delas.

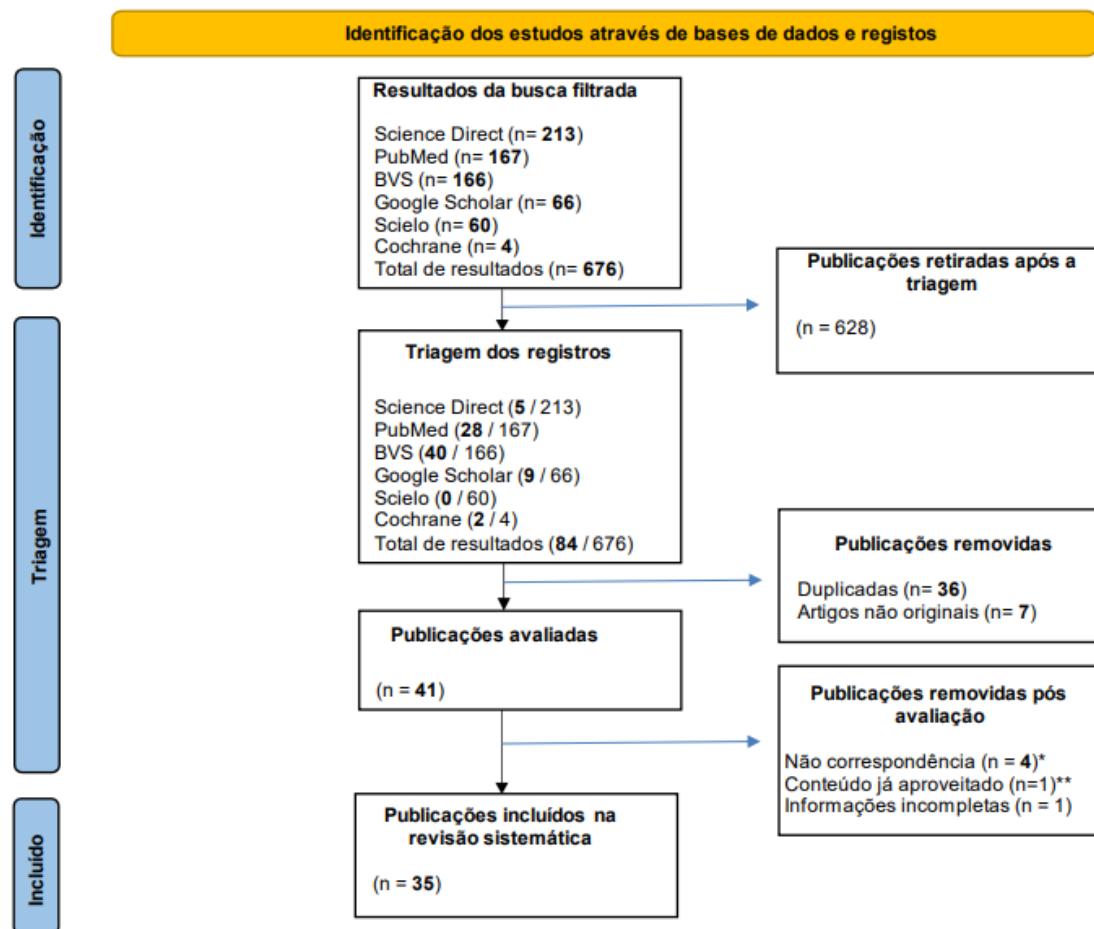
A COVID longa, detectada por cães³³ e máquinas^{57, 58}, é um quadro clínico observado em pacientes recuperados da COVID-19. Estima-se que 1 a cada 5 recuperados de qualquer grau de severidade da COVID-19 irá apresentar a fase longa da doença, que engloba os quadros de sintomas contínuos (sintomas presentes de 4 a 12 semanas) e o quadro pós COVID-19 (sintomas que duram para além das 12 semanas). Os sintomas manifestados nesse estágio da doença podem ser similares aos de quando o SARS-CoV-2 está ativo no organismo, tosse, fadiga, falta de ar, dor muscular e articulares, diminuição do olfato e cefaléia, no entanto, sintomas como comprometimento cognitivo, perda de memória, desordens no sono e ansiedade podem surgir⁶⁴. A presença de material genético viral mesmo após a recuperação completa da doença é uma das hipóteses que podem explicar o prolongamento dos sintomas no organismo. O RNA viral permanece mesmo em pacientes acometidos pela forma assintomática ou moderada da doença, persistindo em tecidos que vão além do sistema respiratório, tendo sido encontrados em tecido cardíaco, linfático e até mesmo nervoso⁶⁵, podendo causar lesões intracranianas e encolhimento cerebral⁶⁶.

Outras revisões sistemáticas a respeito dos componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19 foram feitas anteriormente. Subali et al.⁶⁷(2021) avaliou seis bases de dados, Ebscohost, Proquest, SpringerLink, PubMed, ScienceDirect e Cochrane, e ao final do processo de filtragem, seis artigos foram incluídos na sua revisão. Vallejo Degaudenzi et al.⁶⁸(2022) fez uso dos termos “novel coronavirus”, “COVID-19”, “nCoV”, “Breath-Test”, “Breath”, “Rapid Test” e “SARS-CoV-2”, com permutações entre eles, obtendo ao final do processo dois artigos. O presente artigo prezou por manter bases de dados brasileiras e termos em português, visando a inclusão de artigos nacionais. No entanto, não foi encontrado artigo algum, seja de revisão ou original, tornando esse o primeiro. Esse é, também, o primeiro a compilar resultados obtidos por cães e análise química, além de catalogar as moléculas identificadas. Por se tratar de um tema relativamente recente, todos os três artigos

descrevem a falta de padronização como uma dificuldade. Já que, apesar do tema ter sido cada vez mais buscado por autores, a divergência entre métodos, populações e amostras torna a revisão bibliográfica uma tarefa complexa. É reforçado também que a implementação de técnicas de detecção por COV não implica na substituição ou descontinuidade dos testes sorológicos e moleculares, como o de PCR, mas oferece uma técnica complementar.

Conclusão

Todos os artigos decorrentes dos processos de filtragem apresentaram cenários onde a detecção dos COV era possível e tão eficaz quanto o teste de PCR, quando não o supera. Apesar da detecção por componentes orgânicos voláteis ser constantemente comparada com a performance do padrão ouro no diagnóstico da COVID-19 atual, o teste de PCR, um não visa substituir o outro, mas complementar em uma abordagem única de saúde. Dessa forma seria tecida uma malha de diagnóstico onde um teste seria capaz de cobrir os pontos fracos do outro, já que a detecção por COV oferece um diagnóstico prático, dinâmico e acessível, idealizado para primeiras abordagens e triagens. Os estudos indicam que o teste com cães possui um imenso potencial para ser usado em campo, empregado em locais que haja aglomeração ou na origem e destino de trajetos, onde sua alta especificidade pode ser aproveitada sem as interferências químicas as quais as ferramentas analíticas são tão sensíveis. Elas, por sua vez, têm um alto potencial para ser usado em laboratórios, postos de saúde e ambientes controlados, podendo ser buscado pelos indivíduos suspeitos de COVID-19. Por fim, a compreensão dos mecanismos que precedem a formação dos COV é de crucial importância para o enfrentamento de novas doenças que venham a surgir, apresentando mais uma alternativa para a construção de um modelo de saúde amplo, eficaz e acessível.



* Não correspondência entre os temas dos artigos com o da revisão, mesmo após os filtros terem sido aplicados.

** Preprint cuja publicação já havia sido incorporada na revisão.

Figura 1 - Fluxograma da revisão sistemática conforme as orientações da Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA), denotando as etapas e seus resultados.

Metodologias de detecção empregada pelos autores:



Figura 2: Diagrama de Venn das metodologias de detecção empregadas pelos autores incluídos na revisão.

Autor e ano	Localização	Amostral	Tipo de amostra	Cães	Tempo de treino	Sensibilidade	Especificidade
Angeletti, 2021 [24]	Hospital Universitário de Roma (IT)	COVID-19 +vos (n=20) COVID-19 -vos (n=15) Total (n=35)	Suor das axilas	Pastor alemão (n=3)	4 semanas	Não descrito	Não descrito
Chaber, 2021 [25]	Centros de saúde da França, Emirados Árabes e Austrália	COVID-19 +vos (n=100) COVID-19 -vos (n=414) Total (n=514)	Suor das axilas	Labrador (n=14) Spaniel (n= 1)	Não descrito	95.3%	97.1%

Grandjean, 2022 [26]	Escola Veterinária Nacional de Alfort (FR)	COVID longa +vos (n=45)	Suor das axilas	Multiplas raças (n=2)	Não descrito	Não descrito	Não descrito
Essler, 2021 [27]	Hospital Pediátrico da Filadélfia (US)	COVID-19 +vos (n=16) COVID-19 -vos (n=18) Total (n=34)	Urina e saliva	Labrador (n=8) Pastor Belga (n=1)	Não descrito	71% (urina)	99% (urina)
Jendrny, 2021 [28]	Voluntários de Hannover (DT)	COVID-19 +vos (n=46) COVID-19 -vos (n=47) Total (n=93)	Saliva, suor e urina	Múltiplas raças (n=10)	1,14 semanas	82% (saliva) 95% (urina)	96% (saliva) 98% (urina)
Maia, 2021 [29]	Casos suspeitos em Pernambuco (BR)	COVID-19 +vos (n=44) COVID-19 -vos (n=66) Total (n=100)	Suor das axilas	Múltiplas raças (n=2)	Não descrito	97,40%	100%
Maurer, 2022 [30]	Queen's Medical Center, Havaí (US)	COVID-19 +vos (n=46) COVID-19 -vos (n=47) Total (n=584)	Suor da face e pescoço	Labrador (n=3) Golden Retriever (n=1)	6 semanas	98% (amostras) 96% (ao vivo)	92% (amostras) 100% (ao vivo)
Mutesa, 2022 [31]	Hospital Universitário de Kigali (RW)	COVID-19 +vos (n=123) COVID-19 -vos (n=2948) Total (n=3071)	Suor das axilas	Labrador (n=2) Pastor Belga (n=2)	20 semanas	75%-89%	96,1%-98,4%
Sarkis, 2022 [32]	Universidade de Saint Joseph, Beirut (LB)	COVID-19 +vos (n=459) COVID-19 -vos (n=256) Total (n=203)	Suor das axilas	Pastor Belga (n=2)	4 semanas	100%	97,20%
Twele, 2022 [33]	Amostras de voluntários de Hannover (DT)	Total de amostras (n=732)	Saliva, suor e urina	Múltiplas raças (n=9)	Não descrito	86,7% (COVID longa x aguda) 94,4% (COVID longa x controle)	95,8% (COVID longa x aguda) 96,1% (COVID longa x controle)
Gokool, 2022 [34]	Voluntários remotos dos Estados Unidos (US)	COVID-19 +vos (n=42) COVID-19 -vos (n=96) Total (n=137)	Camisas usadas	Múltiplas raças (n=5)	31 semanas	46%-88%	87%-95%

Guest, 2021 [35]	Voluntários remotos da Grã-Bretanha	COVID-19 +vos (n=200) COVID-19 -vos (n=200) Total (n=400)	Meias usadas	Múltiplas raças (n=6)	Não descrito	82% a 94%	76% a 92%
Mendel, 2021 [36]	Universidade Internacional da Flórida (US)	COVID-19 +vos (n=24) COVID-19 -vos (n=10) Total (n=34)	Máscaras usadas	Múltiplas raças (n=4)	4 semanas	Não descrito	Não descrito

Tabela 1 - Comparações metodológicas no uso de cães farejadores na detecção de componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19.

Autor	Método analítico	Amostral (n)	Tipo de amostra	Descriptivo	Sensibilidade	Especificidade
Gokool, 2022 [34]	HS-SPME-G C-MS	COVID +vos (n=42) COVID -vos (n=96) total (n=137)	Suor	Amostras recolhidas de camisas usadas por voluntários remotos com suspeita de COVID-19 nos Estados Unidos	100% (vpp)	100% (vpn)
Guest, 2021 [35]	Sensor OSC (RoboScientific®)	COVID +vos (n=1097) COVID -vos (n=2031) total (n=3921)	Hálito, saliva e suor	Camisas, máscaras e meias de voluntários remotos com suspeita de COVID-19 da Grã-Bretanha	98% a 100%	99% a 100%
Mendel, 2021 [36]	HS-SPME-G C-MS	COVID +vos (n=24) COVID -vos (n=10) total (n= 34)	Hálito, saliva e suor	Máscara usadas por pacientes com COVID-19 e voluntários negativos da Flórida (US)	Não descrito	Não descrito
Berna, 2021 [37]	GCxGC BenchTOF-MS	COVID+vos (n=23), COVID -vos (n=27) total (n=50)	Hálito	Pacientes com suspeita de COVID-19 do Hospital Pediátrico da Filadélfia (US)	91,0%	75,0%
Chen, 2021 [38]	BreathSpec ®	COVID +vos (n=74) COVID -vos (n=117) total (n=191)	Hálito	Voluntários saudáveis e pacientes com suspeita de COVID-19 e infecções respiratórias de hospitais de Pequim (CN)	92%-100% (COVID x controle) 86-100% (COVID x IR)	86%-100% (COVID x controle) 100% (COVID x IR)
Crespo-Cajigas , 2023 [39]	HS-SPME-G C-MS	COVID +vos (n=56) COVID - (n=46) total (n=112)	Suor	Amostras de suor das mãos de pacientes e colaboradores do Centro Médico de Penn (US)	81,8%	69,7%

Feuerherd, 2020 [40]	MCC-IMS	SARS-CoV-2 (n=93) hCoV-NL63 (n=94) e IAV-H1N1 (n=45)	Células	Estudo in-vitro com células infectadas por SARS-CoV-2, hCoV-NL63 e IAV-H1N1 em Munique (DE)//	98,9%	100,0%
Grassin-Delyle, 2020 [41]	PTR-QiTOF	COVID -vos (n=28) COVID +vos (n=12) total (n=40)	Hálito	Pacientes com suspeita de COVID-19 e SDRA do hospital Raymond Poincaré (FR)	90,0%	94,0%
Ruszkiewicz, 2020 [42]	GC-IMS	COVID +vos (n=31) COVID -vos (n=67) total (n=93)	Hálito	Pacientes com doenças respiratórias do Royal Infirmary (UK) e Klinikum Dortmund (DE)	82,4%	75,0%
Sharma, 2023 [43]	GC-MS (portátil)	COVID +vos (n=77) COVID +vos (n=91) total (n=168)	Hálito	Pacientes e voluntários do Departamento Emergencial de Michigan (US) durante as ondas das variantes Delta e Omicron COVID-19 positivos (n=77), negativos (n=91)	89,4% (COVID x ñ COVID) 92,7% (Variante x Variante)	91% (COVID x ñ COVID) 90,6% (Variante x Variante)
Woollan, 2022 [44]	HS-SPME GC-MS QTOF + Inteligência artificial	COVID +vos (n=14) COVID -vos (n=12) recuperados (n=11) total (n=37)	Hálito	Pacientes sintomáticos, posteriormente recuperados e voluntários saudáveis em Indiana (US)	100%	92%
Xue, 2023 [45]	GC-MS (portátil) + inteligência artificial	COVID +vos (n=65) COVID -vos (n=57) total (n=122)	Hálito	Amostras coletadas de pacientes suspeitos de COVID-19 do Hospital Pudong de Shanghai (CN)	100%	94,1%
Zhang, 2022 [46]	HPPI-TOFMS	COVID +vos (n= 95) COVID -vos (n= 106) total (n=201)	Hálito	Casos suspeitos em um hospital de Shenzhen (CN)	92,2%	86,10%
De Almeida, 2022 [47]	TERA-Bio®	COVID +vos (n=70) casos suspeitos (n=500) total (n=570)	Hálito	Pacientes do Hospital Oswaldo Cruz (BR)	92,6%	96,0%
De Vrie, 2021 [48]	SpiroNose®	COVID +vos (n=230) COVID -vos (n=1.718) total (n=1.948)	Hálito	Usuários do serviço público de saúde da Holanda (NL)	99,6%	79,8%

Kwiatkowski, 2022 [49]	Nariz eletrônico (marca não especificada)	COVID +vos (n=33) COVID -vos (n=17) total (n=50)	Hálito	Pacientes de COVID-19 severa hospitalizados e voluntários saudáveis da Polônia (PL)	Não descrito	Não descrito
Lai, 2022 [50]	BreathPass®	COVID +vos (n=135) COVID -vos (n=617) total (n=752)	Hálito	Estudantes e colabodores suspeitos de COVID-19 de Hong Kong (CN)	95,3%	99,1%
Leong, 2022 [51]	Sensor SERS	COVID +vos (n=74) COVID -vos (n=427) total (n=501)	Hálito	Voluntários suspeitos de COVID-19 moderada, assintomática de Singapura (SG)	96,2%	99,9%
Nazareth, 2022 [52]	GC-IMS	COVID +vos (n=72) outra I.R (n=20) COVID -vos (n=21) total (n=113)	Hálito	Paciêntes com COVID-19 ou outra inflamação respiratória (IR) e voluntários saudáveis do Hospital Universitário de Leicester (UK)	85%	90%
Rodriguez-AgUILAR, 2021 [53]	Cyranose® 320	COVID +vos (n=42) COVID -vos (n=42) total (n=84)	Hálito	Pacientes e voluntários saudáveis do Centro Médico de San Luis Potosi (MX)	100%	98%
Shlomo, 2022 [54]	Breath of Health (BOH)®	COVID +vos (n=96) COVID -vos (n=201) total (n=201)	Hálito	Pacientes suspeitos de COVID-19 exclusivamente assintomática de hospitais de Israel (IL)	95%	100%
Snitz, 2021 [55]	PEN3 Airsense®	COVID +vos (n=27) COVID -vos (n=476) total (n=503)	Hálito	Casos sintomáticos suspeitos em um sistema Drive-Thru de Tel-Aviv (IL)	Não descrito	Não descrito
Wintjens, 2020 [56]	Aenose®	COVID +vos (n=57) COVID -vos (n=162) total (n=219)	Hálito	Pacientes do centro médico da Universidade de Maastricht (NL)	86,0%	54,0%
Zamora-Mendoza, 2021 [57]	Cyranose® 320	COVID +vos (n=42) pós-COVID (n=30) COVID -vos (n=30) total (n=102)	Hálito	Voluntários de 18 a 70 anos com COVID-19, pós-COVID e saudáveis em centros médico do México (MX)	96,7% (COVID-19 x controle) 97,6% (pós-COVID x controle)	100% (COVID-19 x controle e pós-COVID x controle)

					controle)	
Zamora-Mendoza, 2023 [58]	Cyranose® 320	Pós COVID c/ dano pulmonar (n=157) s/ dano pulmonar (n=71) total (n=228)	Hálito	Pacientes com o quadro de pós COVID com ou sem dano pulmonar em centros médicos do México (MX)	88,9%	96,90%

Tabela 2 - Comparações metodológicas no uso de ferramentas químico-analíticas na detecção de componentes orgânicos voláteis associados a COVID-19.

Autor	COV
Mendel, 2021 [36]	Undecano, piridina, heptanal, dodecano, octanal, tridecano, decanal, ácido octanóico e outros (alguns provenientes do material da máscara).
Berna, 2021 [37]	Heptanal, octanal, nonanal, decanos, tridecanos, 2-pentilfurano.
Chen, 2021 [38]	Ácido acético, propanol 1, propanol 2, propanona, etanal e mais 7 COV desconhecidos
Crespo-Cajigas, 2023 [39]	Diacetona álcool, estireno, 2-pentilfurano, fenilacetaldéido, undecano, octanoato de etila, trans-2-nonenal, 1-nonanol, decanal, 2-fenoxyetanol, dodecanal, 1-dodecanol, ácido dodecanóico e 6,10-dimetil-5,9-undecadieno-2-ona-(E).
Feuerherd, 2020 [40]	Pentanal, 2-butanona e nonano.
Grassin-Delyle, 2020 [41]	Metilpent-2-enal, 2,4-octadieno 1-cloro-heptano, e nonanal
Ruszkievicz, 2020 [42]	Etanal, butanona, propanona, octanal, isopreno, heptanal, propanol e propanal e monomero de metanol.
Sharma, 2023 [43]	Metilciclopentano, 2,2,4,-trimetilheptano, deceno, dimetildecano (COVID x ñCOVID) 2,2,4-trimetilheptano, 2,2-metiloctano, decano, metildecano, COV indefinido (Delta x Omicron) benzeno, octano, trimetiloctano, undecano (comuns a todas variantes).
Woollan, 2022 [44]	Acetato de hexila, cedreno, 3,5,5-trimetilhexanal (ester, terpeno, aldeído, cetonas e alcanos).
Xue, 2023 [45]	Ciclohexanona, etilbenzeno, 1-octeno, 2-metilciclohexanona, isopropilbenzeno (cumeno), 3-fenil-1-propeno, decano, 1-deceno.
Zhang, 2022 [46]	Ácido 3-fenilpropanóico (ácido hidrocinâmico), tolueno, benzeno, pentanona e ácido isobutírico/ácido butírico.

Tabela 3 - Componentes orgânicos voláteis mencionados.

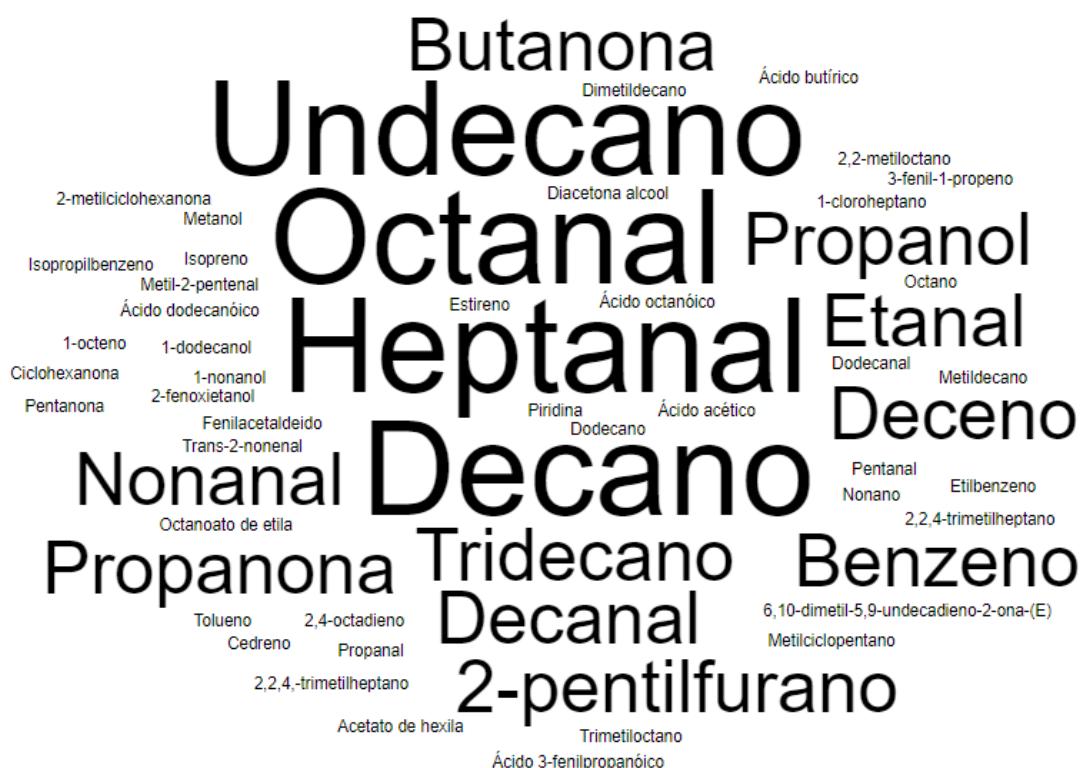


Figura 3 - Nuvem de palavras com os componentes orgânicos voláteis mencionados pelos autores. O tamanho da tipografia reflete a frequência de citações.

Referências

- 1.OMS afirma que COVID-19 é agora caracterizada como pandemia - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde [Internet]. Available from: <https://www.paho.org/pt/news/11-3-2020-who-characterizes-covid-19-pandemic>
- 2.Sun P, Lu X, Xu C, Sun W, Pan B. Understanding of COVID-19 based on current evidence. Journal of Medical Virology [Internet]. 2020 Feb; 25;92(6). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/32096567/?i=1&from=/trending>
- 3.Worobey M, Levy JI, Serrano LM, Crits-Christoph A, Pekar JE, Goldstein SA, et al. The Huanan Seafood Wholesale Market in Wuhan was the early epicenter of the COVID-19 pandemic. Science. 2022 Jul 26;377(6609).
- 4.Gengler I, Wang JC, Speth MM, Sedaghat AR. Sinonasal pathophysiology of SARS-CoV -2 and COVID -19: A systematic review of the current evidence. Laryngoscope Investigative Otolaryngology. 2020 Apr 16;
- 5.The enemy within: How SARS-CoV-2 uses our own proteins to infect our cells [Internet]. CAS. Available from: <https://www.cas.org/resources/cas-insights/drug-discovery/covid-19-spike-protein>

- 6.Mayi BS, Leibowitz JA, Woods AT, Ammon KA, Liu AE, Raja A. The role of Neuropilin-1 in COVID-19. *PLoS Pathog* [Internet]. 2021 [cited 2023 Mar 23];e1009153–3. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/global-literature-on-novel-coronavirus-2019-ncov/resource/pt/covidwho-1006381>
- 7.Vallejo Degaudenzi A, Hernandez DM, Hidalgo D, Contreras E, Ceballos ML, Polanco M, et al. SARS-CoV-2 Breath Tests Implementation for the Rapid COVID-19 Surveillance: A Game Changer?- A Review of Existing Data. *InterAmerican Journal of Medicine and Health*. 2022 Mar 23;4:1–6.
- 8.Hasan MR, Suleiman M, Pérez-López A. Metabolomics in the Diagnosis and Prognosis of COVID-19. *Frontiers in Genetics*. 2021 Jul 23;12.
- 9.Xiao N, Nie M, Pang H, Wang B, Hu J, Meng X, et al. Integrated cytokine and metabolite analysis reveals immunometabolic reprogramming in COVID-19 patients with therapeutic implications. *Nature Communications*. 2021 Mar 12;12(1).
- 10.Savitz J. The kynurenine pathway: a finger in every pie. *Molecular Psychiatry* [Internet]. 2019 Apr 12 [cited 2020 Jan 13];25(1):131–47. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41380-019-0414-4>
- 11.Mangalmurti N, Hunter CA. Cytokine Storms: Understanding COVID-19. *Immunity*. 2020 Jul;53(1):19–25.
- 12.Blasco H, Bessy C, Plantier L, Lefevre A, Piver E, Bernard L, et al. The specific metabolome profiling of patients infected by SARS-CoV-2 supports the key role of tryptophan-nicotinamide pathway and cytosine metabolism. *Scientific Reports*. 2020 Oct 8;10(1).
- 13.Williams H, Pembroke A. SNIFFER DOGS IN THE MELANOMA CLINIC? *The Lancet*. 1989 Apr;333(8640):734.
- 14.Cornu JN, Cancel-Tassin G, Ondet V, Girardet C, Cussenot O. Olfactory Detection of Prostate Cancer by Dogs Sniffing Urine: A Step Forward in Early Diagnosis. *European Urology* [Internet]. 2011 Feb;59(2):197–201. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0302283810009449>
- 15.Sonoda H, Kohnoe S, Yamazato T, Satoh Y, Morizono G, Shikata K, et al. Colorectal cancer screening with odour material by canine scent detection. *Gut*. 2011 Jan 31;60(6):814–9.
- 16.Ehmann R, Boedeker E, Friedrich U, Sagert J, Dippon J, Friedel G, et al. Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon. *European Respiratory Journal*. 2011 Aug 18;39(3):669–76.
- 17.Horvath G, Andersson H, Nemes S. Cancer odor in the blood of ovarian cancer patients: a retrospective study of detection by dogs during treatment, 3 and 6 months afterward. *BMC Cancer*. 2013 Aug 26;13(1).
- 18.Maurer M, McCulloch M, Willey AM, Hirsch W, Dewey D. Detection of Bacteruria by Canine Olfaction. *Open Forum Infectious Diseases*. 2016;3(2).
- 19.Berna A, Odom John AR. Metabolites to Diagnose Infection. *Clinical Chemistry*. 2021; 68(1), 43–51.
- 20.Singletary M, Krichbaum S, Passler T, Lazarowski L, Fischer T, Silvis S, et al. A Novel Method for Training the Interdiction of Restricted and Hazardous Biological Materials by Detection Dogs. *Frontiers in Medicine*. 2022 Apr 12;9.

- 21.Catala A, Grandgeorge M, Schaff JL, Cousillas H, Hausberger M, Cattet J. Dogs demonstrate the existence of an epileptic seizure odour in humans. *Scientific Reports* [Internet]. 2019 Mar 28;9(1):4103. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-40721-4>
- 22.Maa E, Arnold J, Ninedorf K, Olsen H. Canine detection of volatile organic compounds unique to human epileptic seizure. *Epilepsy & Behavior*. 2021 Feb;115:107690.
- 23.Walker, D. B. et al. Naturalistic quantification of canine olfactory sensitivity. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 97, n. 2-4, p. 241–254, maio 2006.
- 24.Angeletti S, Travaglino F, Spoto S, Pascarella MC, Mansi G, De Cesaris M, et al. COVID-19 sniffer dog experimental training: Which protocol and which implications for reliable sidentification? *Journal of Medical Virology*. 2021 Jun 26;
- 25.Chaber A, Hazel S, Matthews B, Withers A, Alvergnat G, Grandjean D, et al. Evaluation of canine detection of COVID-19 infected individuals under controlled settings. *Transboundary and Emerging Diseases*. 2022 Apr 5;69(5).
- 26.Grandjean D, Slama D, Gallet C, Julien C, Seyrat E, Blondot M, et al. Screening for SARS-CoV-2 persistence in Long COVID patients using sniffer dogs and scents from axillary sweat samples. 2022 Jan 12;
- 27.Essler JL, Kane SA, Nolan P, Akaho EH, Berna AZ, DeAngelo A, et al. Discrimination of SARS-CoV-2 infected patient samples by detection dogs: A proof of concept study. Leal WS, editor. *PLOS ONE*. 2021 Apr 14;16(4):e0250158.
- 28.Jendrny P, Twele F, Meller S, Schulz C, von Köckritz-Blickwede M, Osterhaus ADME, et al. Scent dog identification of SARS-CoV-2 infections in different body fluids. *BMC Infectious Diseases*. 2021 Jul 29;21(1).
- 29.Maia R de CC, Alves LC, Silva JES da, Czyba FR, Pereira JA, Soistier V, et al. Canine Olfactory Detection of SARS-COV2-Infected Patients: A One Health Approach. *Frontiers in Public Health*. 2021 Oct 21;9.
- 30.Maurer M, Seto T, Guest C, Somal A, Julian C. Detection of SARS-CoV-2 by Canine Olfaction: A Pilot Study. *Open Forum Infectious Diseases*. 2022 May 7;
- 31.Mutesa L, Misbah G, Remera E, Ebbers H, Schalke E, Tuyisenge P, et al. Use of trained scent dogs for detection of COVID-19 and evidence of cost-saving. *Frontiers in Medicine*. 2022 Dec 1;9.
- 32.Sarkis R, Lichaa A, Mjaess G, Saliba M, Selman C, Lecoq-Julien C, et al. New method of screening for COVID-19 disease using sniffer dogs and scents from axillary sweat samples. *Journal of Public Health*. 2021 Jun 23;44(1):e36–41.
- 33.Twele F, ten Hagen NA, Meller S, Schulz C, Osterhaus A, Jendrny P, et al. Detection of Post-COVID-19 Patients Using Medical Scent Detection Dogs—A Pilot Study. *Frontiers in Medicine*. 2022 Jun 16;9.
- 34.Gokool VA, Crespo-Cajigas J, Mallikarjun A, Collins A, Kane SA, Plymouth V, et al. The Use of Biological Sensors and Instrumental Analysis to Discriminate COVID-19 Odor Signatures. *Biosensors*. 2022 Nov 11;12(11):1003.

- 35.Guest C, Dewhirst SY, Lindsay SW, Allen DJ, Aziz S, Baerenbold O, et al. Using trained dogs and organic semi-conducting sensors to identify asymptomatic and mild SARS-CoV-2 infections: an observational study. *Journal of Travel Medicine*. 2022 Mar 24;
- 36.Mendel J, Frank K, Edlin L, Hall K, Webb D, Mills J, et al. Preliminary accuracy of COVID-19 odor detection by canines and HS-SPME-GC-MS using exhaled breath samples. *Forensic Science International: Synergy*. 2021;3:100155.
- 37.Berna AZ, Akaho EH, Harris RM, Congdon M, Korn E, Neher S, et al. Reproducible Breath Metabolite Changes in Children with SARS-CoV-2 Infection. *ACS Infectious Diseases*. 2021 Jul 28;7(9):2596–603.
- 38.Chen H, Qi X, Zhang L, Li X, Ma J, Zhang C, et al. COVID-19 screening using breath-borne volatile organic compounds. *Journal of Breath Research*. 2021 Oct 8;
- 39.Crespo-Cajigas J, Gokool VA, Ramírez Torres A, Forsythe L, Abella BS, Holness HK, et al. Investigating the Use of SARS-CoV-2 (COVID-19) Odor Expression as a Non-Invasive Diagnostic Tool—Pilot Study. *Diagnostics*. 2023 Feb 13;13(4):707.
- 40.Feuerherd M, Sippel AK, Erber J, Baumbach JI, Schmid RM, Protzer U, et al. A proof of concept study for the differentiation of SARS-CoV-2, hCoV-NL63, and IAV-H1N1 in vitro cultures using ion mobility spectrometry. *Scientific Reports*. 2021 Oct 11;11(1).
- 41.Grassin-Delyle S, Roquencourt C, Moine P, Saffroy G, Carn S, Heming N, et al. Metabolomics of exhaled breath in critically ill COVID-19 patients: A pilot study. *EBioMedicine*. 2021 Jan;63:103154.
- 42.Ruszkiewicz DM, Sanders D, O'Brien R, Hempel F, Reed MJ, Riepe AC, et al. Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study. *EClinicalMedicine*. 2020 Dec;29-30:100609.
- 43.Sharma R, Zang W, Tabartehfarahani A, Lam A, Huang X, Sivakumar AD, et al. Portable Breath-Based Volatile Organic Compound Monitoring for the Detection of COVID-19 During the Circulation of the SARS-CoV-2 Delta Variant and the Transition to the SARS-CoV-2 Omicron Variant. *JAMA Network Open* [Internet]. 2023 Feb 28 [cited 2023 Apr 3];6(2):e230982. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamanetworkopen>
- 44.Woollam M, Angarita-Rivera P, Siegel A, Kalra V, Kapoor R, Agarwal M. Exhaled COVs can discriminate subjects with COVID-19 from healthy controls. *Journal of Breath Research*. 2022 Apr 22;
- 45.Xue C, Xu X, Liu Z, Zhang Y, Xu Y, Niu J, et al. Intelligent COVID-19 screening platform based on breath analysis. *Journal of Breath Research*. 2022 Nov 24;17(1):016005.
- 46.Zhang P, Ren T, Chen H, Li Q, He M, Feng Y, et al. A feasibility study of Covid-19 detection using breath analysis by high-pressure photon ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Breath Research*. 2022 Sep 12;16(4):046009.
- 47.De Almeida MB, Aharonov-Nadborny R, Gabbai E, Palka AP, Schiavo L, Esmanhoto E, et al. Clinical trial and detection of SARS-CoV-2 by a commercial breath analysis test based on Terahertz technology. Plavec D, editor. *PLOS ONE*. 2022 Sep 20;17(9):e0273506.
- 48.de Vries R, Vigevano RM, Mulder S, Farzan N, Vintges DR, Goeman JJ, et al. Ruling out SARS-CoV-2 infection using exhaled breath analysis by electronic nose in a public health setting. 2021 Feb 16;

- 49.Kwiatkowski A, Borys S, Sikorska K, Drozdowska K, Smulko JM. Clinical studies of detecting COVID-19 from exhaled breath with electronic nose. *Scientific Reports*. 2022 Sep 26;12(1).
- 50.Lai CK, Choi K, Yao J, Tong RC. Detection of volatile organic compounds in exhaled breath for mass screening of COVID-19 infection. *Hong Kong Medical Journal*. 2022 Dec 17;
- 51.Leong SX, Leong YX, Tan EX, Sim HYF, Koh CSL, Lee YH, et al. Noninvasive and Point-of-Care Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS)-Based Breathalyzer for Mass Screening of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) under 5 min. *ACS Nano*. 2022 Jan 18;16(2):2629–39.
- 52.Nazareth J, Pan D, Kim JW, Leach J, Brosnan JG, Ahmed A, et al. Discriminatory Ability of Gas Chromatography-Ion Mobility Spectrometry to Identify Patients Hospitalized With COVID-19 and Predict Prognosis. *Open Forum Infectious Diseases* [Internet]. 2022 Nov 1 [cited 2023 Apr 3];9(11):ofac509. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36345428/>
- 53.Rodríguez-Aguilar M, Díaz de León-Martínez L, Zamora-Mendoza BN, Comas-García A, Guerra Palomares SE, García-Sepúlveda CA, et al. Comparative analysis of chemical breath-prints through olfactory technology for the discrimination between SARS-CoV-2 infected patients and controls. *Clinica Chimica Acta*. 2021 Aug;519:126–32.
- 54.Shlomo IB, Frankenthal H, Laor A, Greenhut AK. Detection of SARS-CoV-2 infection by exhaled breath spectral analysis: Introducing a ready-to-use point-of-care mass screening method. *eClinicalMedicine*. 2022 Mar;45:101308.
- 55.Snitz K, Andelman-Gur M, Pinchover L, Weissgross R, Weissbrod A, Mishor E, et al. Proof of concept for real-time detection of SARS CoV-2 infection with an electronic nose. Louis M, editor. *PLOS ONE*. 2021 Jun 2;16(6):e0252121.
- 56.Wintjens AGWE, Hintzen KFH, Engelen SME, Lubbers T, Savelkoul PHM, Wesseling G, et al. Applying the electronic nose for pre-operative SARS-CoV-2 screening. *Surgical Endoscopy*. 2020 Dec 2;35(12):6671–8.
- 57.Zamora-Mendoza BN, Díaz de León-Martínez L, Rodríguez-Aguilar M, Mizaikoff B, Flores-Ramírez R. Chemometric analysis of the global pattern of volatile organic compounds in the exhaled breath of patients with COVID-19, post-COVID and healthy subjects. Proof of concept for post-COVID assessment. *Talanta*. 2022 Jan;236:122832.
- 58.Zamora-Mendoza BN, Sandoval-Flores H, Rodríguez-Aguilar M, Jiménez-González C, Alcántara-Quintana LE, Berumen- Rodríguez AA, et al. Determination of global chemical patterns in exhaled breath for the discrimination of lung damage in postCOVID patients using olfactory technology. *Talanta*. 2023 May;256:124299.
- 59.Lichtenstein M, Turjeman S, Pinto JM, Barash O, Koren O. Pathophysiology of SARS-CoV-2 Infection in the Upper Respiratory Tract and Its Relation to Breath Volatile Organic Compounds. Suez J, editor. *mSystems*. 2021 Aug 31;6(4).
- 60.Wrenn JO, Pakala SB, Vestal G, Shilts MH, Brown HM, Bowen SM, et al. COVID-19 severity from Omicron and Delta SARS-CoV-2 variants. *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2022 Apr 13;16(5):832–6.
- 61.-Mancilla-Tapia JM, Lozano-Esparza V, Orduña A, Osuna-Chávez RF, Robles-Zepeda RE, Maldonado-Cabrera B, et al. Dogs Detecting COVID-19 From Sweat and Saliva of Positive People: A Field Experience in Mexico. *Frontiers in Medicine*. 2022 Apr 1;9.

- 62.Sakr R, Ghsoub C, Rbeiz C, Lattouf V, Riachy R, Haddad C, et al. COVID-19 detection by dogs: from physiology to field application—a review article. Postgraduate Medical Journal. 2021 Feb 11;postgradmedj-2020-139410.
- 63.Meller S, Al Khatri MSA, Alhammadi HK, Álvarez G, Alvergnat G, Alves LC, et al. Expert considerations and consensus for using dogs to detect human SARS-CoV-2-infections. Frontiers in Medicine. 2022 Dec 8;9.
- 64.Aiyegbusi OL, Hughes SE, Turner G, Rivera SC, McMullan C, Chandan JS, et al. Symptoms, complications and management of long COVID: a review. Journal of the Royal Society of Medicine. 2021 Jul 15;114(9):014107682110328.
- 65.Chertow D, Stein S, Ramelli S, Grazioli A, Chung JY, Singh M, et al. SARS-CoV-2 infection and persistence throughout the human body and brain [Internet]. Research Square. 2022. Available from: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1139035/v1>
- 67.Subali AD, Wiyono L, Yusuf M, Zaky MFA. The potential of volatile organic compounds-based breath analysis for COVID-19 screening: a systematic review & meta-analysis. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. 2022 Feb;102(2):115589.
- 68.Vallejo Degaudenzi A, Hernandez DM, Hidalgo D, Contreras E, Ceballos ML, Polanco M, et al. SARS-CoV-2 Breath Tests Implementation for the Rapid COVID-19 Surveillance: A Game Changer?- A Review of Existing Data. InterAmerican Journal of Medicine and Health. 2022 Mar 23;4:1–6.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

As ferramentas de pesquisa automatizada e humana apontaram que os COV são resíduos do maquinário celular, que juntos compõem uma alquimia de odores característicos do agravo, e por isso se encontram presentes em tecidos afetados pelo agente patológico. Tanto a detecção químico-analítica quanto a detecção por olfação canina são eficazes, atingindo sensibilidade e especificidade média acima de 80%. A detecção por componentes orgânicos voláteis apresenta maior sensibilidade, enquanto a detecção por olfação canina apresenta maior especificidade. Apesar da necessidade de estudos constantes para entender a dinâmica da doença, já é possível vislumbrar o uso das técnicas de diagnóstico a partir da detecção de COV, seja por cães ou por máquinas, em campo, laboratório, postos de saúde e afins, como reforçado pelos estudos piloto aqui revisados. Em comparação com outras formas de diagnóstico empregadas no combate a COVID-19, a detecção por COV se mostrou um método prático, menos invasivo e tão eficaz quanto os testes de PCR. Por fim, ambos os métodos complementam-se para uma abordagem única de saúde, não visando substituir o teste de PCR, mas sim expandir as possibilidades de diagnóstico da COVID-19.

ANEXOS

Instruções para autores: <https://rsp.fsp.usp.br/instrucoes-aos-autores/#page-title>

c) Artigos de revisão

Revisão sistemática e meta-análise – Por meio da síntese de resultados de estudos originais, quantitativos ou qualitativos, objetiva responder a uma pergunta específica e de relevância para a saúde pública. Descreve com pormenores o processo de busca dos estudos originais, os critérios utilizados para seleção daqueles que foram incluídos na revisão e os procedimentos empregados na síntese dos resultados obtidos pelos estudos revisados. Consultar:

MOOSE checklist e fluxograma para meta-análises e revisões sistemáticas de estudos observacionais;

PRISMA checklist e fluxograma para revisões sistemáticas e meta-análises.

Revisão narrativa ou crítica – Apresenta caráter descritivo-discursivo e dedica-se à apresentação compreensiva e à discussão de temas de interesse científico no campo da saúde pública. Deve apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Deve ser elaborada por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

- Devem conter até 4.000 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências).
- Número máximo de tabelas e figuras: 5.
- Número máximo de referências: ilimitado.
- Resumos no formato estruturado com até 300 palavras, ou narrativo com até 150 palavras.

6. Preparo do manuscrito

Título no idioma original do manuscrito

O título deve ser conciso e completo, contendo informações relevantes que possibilitem a recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 90 caracteres, incluindo espaços.

Título resumido

É o título que constará no cabeçalho do artigo. Deve conter a essência do assunto em até 45 caracteres.

Descritores

Para manuscritos escritos em português ou espanhol, devem ser indicados entre 3 a 10 descritores extraídos do vocabulário **“Descritores em Ciências da Saúde” (DeCS)**, da BVS/Bireme, no idioma original. Para manuscritos em inglês, utilizar o **Medical Subject Headings (MeSH)** da National Library of Medicine (EUA). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos livres.

Resumo

O resumo deve ser escrito em seu idioma original. As especificações quanto ao tipo de resumo estão descritas em cada uma das categorias de artigos. Como regra geral, o resumo deve incluir: objetivo do estudo, principais procedimentos metodológicos (população em estudo, local e ano de realização, métodos observacionais e analíticos), principais resultados e conclusões.

Estrutura do texto

Introdução – Deve relatar o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes. O objetivo do manuscrito deve estar explícito no final da introdução.

Métodos – É imprescindível a descrição clara dos procedimentos adotados, das variáveis analisadas (com a respectiva definição, se necessário) e da hipótese a ser testada. Descrever também a população, a amostra e os instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade. É necessário que haja informações sobre a coleta e o processamento de dados. Devem ser incluídas as devidas referências para as técnicas e métodos empregados, inclusive os métodos estatísticos; é fundamental que os métodos novos ou substancialmente modificados sejam descritos, justificando-se as razões para seu uso e mencionando-se suas limitações. Os critérios éticos de pesquisa devem ser respeitados. Os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões éticos e aprovada por comitê de ética.

Resultados – É preciso que sejam apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados, nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

Discussão – A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os aspectos novos e importantes observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas precisam ser esclarecidas. É necessário incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As *Conclusões* devem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho.

Referências

Listagem: As referências devem ser normatizadas de acordo com o estilo *Vancouver – Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication*, listadas por ordem de citação. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o PubMed. No caso de publicações com até seis autores, todos devem ser citados; acima de seis, devem ser citados apenas os seis primeiros, seguidos da expressão latina "et al.". Sempre que possível, incluir o DOI do documento citado.

Exemplos:

Artigo de periódicos

Brüggemann OM, Osis MJD, Parpinelli MA. Apoio no nascimento: percepções de profissionais e acompanhantes escolhidos pela mulher. Rev Saude Publica. 2007;41(1):44-52. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102006005000015>

Livro

Wunsch Filho V, Koifman S. Tumores malignos relacionados com o trabalho. In: Mendes R, coordenador. Patologia do trabalho. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2003. v.2, p. 990-1040.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer Washington: National Academy Press; 2001[citado 2003 jul 13]. Disponível em: http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas ([Citing Medicine](#)) da National Library of Medicine, disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>.

Citação no texto:

É necessário que a referência seja indicada pelo seu número na listagem, na forma de **exponte (sobrescrito)** antes da pontuação no texto, sem uso de parênteses, colchetes ou similares. Nos casos em que a citação do nome do autor e ano for relevante, o número da referência deve ser colocado seguido do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por "e". Nos outros casos de autoria múltipla, apresentar apenas o primeiro autor, seguido de "et al."