

# DIAGNÓSTICO DE COVID – 19 E DETECÇÃO DE VARIANTES POR SISTEMA CRISPR: DESAFIOS E PERSPECTIVAS

CARVALHO, Amanda Santos\*  
RABELO, Daniel Mansur\*\*  
CARVALHO, Tales Renato Ferreira\*\*

## RESUMO

O vírus da COVID-19 tornou-se um grande problema de saúde pública. Com o seu alto poder de disseminação, o diagnóstico precoce e o monitoramento dos pacientes positivos são essenciais. Quanto mais rápido for o diagnóstico da doença, mais urgentemente esse paciente pode receber os cuidados médicos e ser isolado fisicamente do restante da população, quebrando assim, a cadeia de disseminação do patógeno. No entanto, o teste padrão-ouro para identificação do SARS-CoV-2 é o RT-PCRq que requer equipamentos e suprimentos de laboratórios de alto custo. Nos últimos anos os métodos de detecção baseados em repetições palindrômicas curtas regularmente inter espaçadas (CRISPR) mostraram-se eficientes para testes moleculares baseados em ácido nucleico devido à sua simplicidade, alta sensibilidade e especificidade e por permitir detectar qualquer tipo de microrganismo e suas variantes. Esta revisão apresenta alguns estudos realizados para de detecção de COVID-19 baseados em CRISPR, seus desafios e perspectivas. Por se tratar de uma técnica em evolução, existem desafios a serem superados para a utilização em estabelecimentos de saúde, mas já é possível notar o seu potencial emprego em diagnósticos específicos de forma simples e confiável.

**PALAVRAS-CHAVE:** Covid-19. CRISPR/Cas. Diagnósticos. Variantes.

## ABSTRACT

The COVID-19 virus has become a major public health problem. With its high dissemination power, early diagnosis and monitoring of positive patients is essential. The faster the diagnosis of the disease, the more urgently that patient can receive medical care and be physically isolated from the rest of the population, thus breaking the chain of dissemination of the pathogen. However, the gold standard test for identifying SARS-CoV-2 is RT-PCRq, which requires expensive laboratory equipment and supplies. In recent years, detection methods based on regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) have proven to be efficient for molecular tests based on nucleic acid due to their simplicity, high sensitivity and specificity, allowing the detection of any type of microorganism and its variants. This review presents some studies carried out for the detection of COVID-19 based on CRISPR, their challenges and perspectives. As it is an evolving technique, there are challenges to be overcome for its use in healthcare facilities, but it is already possible to see its potential use in specific diagnoses in a simple and reliable way.

**KEYWORDS:** Covid-19. CRISPR/Cas. Diagnostics. Variants..

---

\* Graduanda em Farmácia – FASF – Luz/MG. Rua Iguatama, nº 36, Monsenhor Parreiras, Luz/MG / (37) 999662-4485. E-mail: [amandac043@gmail.com](mailto:amandac043@gmail.com).

\*\* Docente do curso de Farmácia – FASF – Luz/MG.

## 1 INTRODUÇÃO

No final do ano de 2019 surgiu um novo vírus na cidade de Wuhan, na China, que acarretou nos meses seguintes o surgimento de uma pandemia devastadora. Ele é uma variação de um coronavírus preexistente, denominado novo coronavírus (SARS-CoV-2), que causa uma doença com manifestações predominantemente respiratórias, a Covid-19 (HUANG et al.,2020).

Sabe-se que o desenvolvimento da Engenharia Genômica sempre permitiu grandes avanços na área de saúde, inclusive em desenvolvimento de diagnósticos moleculares, o que permite um diagnóstico rápido de algumas doenças infecciosas como a Covid-19. A descoberta e o avanço recente na biologia de repetições palindrômicas curtas regularmente intercaladas (CRISPR) e proteínas Cas associadas à CRISPR levaram a rápida expansão da pesquisa e, mais recentemente, ao diagnóstico molecular (XIANG et al., 2020).

Mesmo após mais de dois anos de pandemia, muitos países tem dificuldades em diferenciar qual o melhor teste para identificar os contaminados e com o aumento no número de testagens seria possível reunir dados populacionais capazes de subsidiar as decisões de saúde pública, como por exemplo, abertura de escolas, reuniões em massa, retorno ao trabalho, viagens e flexibilização das medidas restritivas (PEELING et al., 2021).

De acordo com Palaz et al. (2021), a técnica RT-qPCR é o método padrão-ouro para o diagnóstico da COVID-19, porém este método possui algumas desvantagens. O uso de Métodos baseados na técnica CRISPR-Cas tem empregado na detecção do patógeno causador da SARS-CoV-2, sendo um método com grande potencial para auxiliar na luta contra o vírus, uma vez que é de suma importância a detecção e o isolamento de indivíduos infectados.

Partindo da relevância do diagnóstico precoce do novo coronavírus e da identificação de suas variantes para a contenção de disseminação do vírus e o uso de ferramentas baseadas em CRISPR para métodos de diagnóstico, o objetivo desse trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre o uso de CRISPR como um instrumento de detecção de ácido nucléico para SARS-CoV-2 e discutir as perspectivas futuras.

## 2 METODOLOGIA

Trata-se de uma revisão narrativa, por ela possibilitar uma discussão mais ampliada, pelo fato de o conteúdo ainda não estar acessível na literatura especializada por meio de publicações de periódicos latino-americanos e por abordar um tema de extrema importância, recente, emergente e urgente em termos globais.

Por CRISPR ser uma técnica nova e ainda restrita, o seu uso está limitado a grandes centros de pesquisa de países economicamente desenvolvidos, esta publicação tem a finalidade de atualizar os campos da ciência afins, de países cuja comunicação sejam as línguas latinas, além de demonstrar como esta revolucionária técnica vem sendo usada tanto para o desenvolvimento de métodos de diagnósticos para COVID-19 quanto para a detecção de variantes.

Foram utilizados como termos de busca - "COVID-19, CRISPR and diagnostics, COVID-19 and CRISPR", "Variants" em inglês e "COVID-19, CRISPR e diagnósticos", "Variantes" em português. Neste levantamento prévio dos dados, foram buscadas publicações nos seguintes portais indexadores: PubMed, Scielo e NCBI. Dentre os artigos encontrados foram utilizados aqueles onde houve o uso do CRISPR para diagnóstico do SARS-Cov-2, sendo seis artigos em inglês. Não foi encontrado artigo na língua portuguesa que relacionasse os dois assuntos.

## 3 COVID-19 E DIAGNÓSTICOS POR CRISPR

Desde o final do ano de 2019, o mundo enfrenta uma crise após a descoberta de um novo vírus. Esse vírus é uma variação de um coronavírus preexistente, denominado novo coronavírus (SARS-CoV-2) que causa uma doença com manifestações predominantemente respiratórias, a Covid-19. O primeiro estudo que demonstrou algumas das manifestações desse vírus sobre o ser humano foi publicado em janeiro de 2020 (HUANG et al., 2020).

O vírus responsável pela COVID-19 é um vírus de RNA de fita única de sentido positivo, do gênero Betacoronavírus (DE WIT et al., 2016). Em análises filogenéticas, foi demonstrado que esse vírus está relacionado a vários outros tipos de coronavírus humanos, que causam uma variedade de infecções respiratórias superiores e inferiores, incluindo SARS-CoV (do surto de 2002) e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) em 2012 (LI et al., 2020).

Os coronavírus foram descritos pela primeira vez na década de 1960. São vírus de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples, esféricos, encapsulados e cercados por uma camada de proteínas. A proteína S, com aspecto de espículas, produz estrutura com aparência de coroa, determinando o tropismo do vírus e fusão com as células do hospedeiro. Pertencem à Ordem Nidovirales, Família Coronaviridae, Subfamília Orthocoronaviridae e classificam-se nos Gêneros: Alphacoronavírus ( $\alpha$ COV), Betacoronavírus ( $\beta$ -COV), Deltacoronavírus ( $\delta$ -COV) e Gammacoronavírus ( $\gamma$ -COV) (WANG et al.,2019).

O novo coronavírus, SARS-CoV-2, pode ser transmitido através de gotículas do nariz ou da boca entre as pessoas quando estas espirram ou tosse. De acordo com Guan et al. (2019), a doença COVID-19 pode apresentar sintomas semelhantes a outras infecções respiratórias, de modo que não são específicos para a doença e não podem ser utilizados para um diagnóstico preciso. Sendo assim, é necessário um monitoramento de todo o seu ciclo para que a disseminação do vírus seja combatida em todo o mundo, o que pode ser facilitado por um diagnóstico prévio.

Segundo Loeffelholz et al. (2020), para que se obtenha resultados para diagnóstico da COVID-19, além do uso do método de laboratório adequado, a coleta da amostra deve ser feita de forma adequada no momento certo da infecção, no sentido de aumentar a chance de detecção do marcador biológico investigado. O teste confirmatório considerado padrão-ouro é a detecção do material genético do vírus, como o RNA viral, por PCR em tempo real (RT-qPCR), no entanto, existem alguns aspectos limitantes desse teste, como: 1) a positividade do teste geralmente ocorre nos primeiros 4 a 8 dias após o aparecimento dos sintomas, geralmente tornando-se negativo após cerca de 14 dias; 2) trata-se de teste de alta complexidade técnica, que necessita de uma infraestrutura com um nível de biossegurança adequado para realização e é relativamente caro. Desta forma, testes com metodologias mais rápidas e precisas se tornaram necessárias.

Quanto mais precoce for o diagnóstico da doença viral, mais rápido o paciente pode receber os cuidados médicos e ser isolado fisicamente do restante da população, quebrando assim a cadeia de disseminação do vírus. Uma técnica chamada CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ou “Conjunto de

Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas” vem sendo utilizada para detecção de ácido nucleico e diagnóstico de patógenos. (PALAZ et al, 2021).

De acordo ainda com Palaz et al. (2021), o uso de Métodos baseados na técnica CRISPR-Cas tem sido empregado pra a detecção do patógeno causador da SARS-CoV-2, sendo um método com grande potencial para auxiliar na luta contra o vírus, uma vez que é de suma importância a detecção e o isolamento de indivíduos infectados.

O “Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas” ou CRISPR é usado pra clivar ácidos nucléicos invasores na natureza e vem sendo utilizado para detecção de ácido nucleico e diagnóstico de patógenos. Esses métodos são rápidos, de baixo custo, portáteis, fáceis de usar, altamente sensíveis e específicos e não requerem dispositivos complexos (PALAZ et al., 2021).

Diferentes variantes desse sistema estão sendo usadas para desenvolver métodos de detecção molecular simples, portáteis, precisos, eficientes, rápidos e baratos. Ele possui duas partes principais: a Endonuclease Cas (para quebrar o sítio genômico alvo) e RNA guia (para identificar e direcionar a endonuclease Cas para a região alvo) (GANBAATAR e LIU. 2021).

Ao decorrer da pandemia, estudos foram realizados para desenvolvimento de testes para a COVID-19, uma vez que o diagnóstico precoce da doença permite o seu controle. Dentre esses métodos desenvolvidos muitos usaram a ferramenta CRISPR-Cas. Nesse sistema, o RNA CRISPR (crRNA) e as proteínas CRISPR cortam especificamente a região alvo que é complementada com a sequência de crRNA. Dentre as proteínas efectoras CRISPR, diferentemente da proteína Cas9, as proteínas Cas12 e Cas13 têm uma capacidade única de clivagem colateral, o que permite que essas ferramentas clivem indiscriminadamente o ácido nucleico circundante, uma vez que se ligam ao local alvo (GANBAATAR e LIU 2021).

As proteínas Cas 12 e Cas 13 fazem parte do sistema CRIPR-Cas de classe dois e utilizam de apenas uma proteína Cas de múltiplos domínios juntamente com o crRNA para interferência. Esse grupo tem sido mais usado ultimamente para edição do genoma e diagnóstico rápido e preciso de doenças infecciosas (XIANG et al., 2020).

Em seu estudo, Broughton et al. (2020) desenvolveu e validou inicialmente um método de diagnóstico para pacientes com COVID-19. As amostras de pacientes com infecção por SARS-Cov-2 e pacientes com outras infecções respiratórias foram analisadas. Este ensaio realiza transcrição reversa simultânea e amplificação isotérmica, usando amplificação mediada por *loop* (RT-LAMP) para RNA extraído de *swabs* nasofaríngeos ou orofaríngeos em meio de transporte universal (UTM), seguido de detecção de sequências de coronavírus predefinidas pela proteína Cas12. Após a clivagem de uma molécula repórter, a detecção do vírus SARS-CoV-2 é confirmada.

Outro método, utilizando CRISPR/Cas12a, foi desenvolvido empregando sinais de fluorescência a olho nu (CRISPR / Cas12a-NER), o que demonstra facilidade no uso do teste em locais que não possuem equipamentos para análise de resultado. Nessa detecção são usados reagentes semelhantes aos de outros métodos, com exceção de reagentes para amplificação auxiliada por transcrição reversa de recombinase (RT-RAA), um gene repórter marcado com uma molécula fluorescente verde, que é utilizado e o mesmo será clivado por Cas12a. Havendo ácido nucleico de SARS-CoV-2 no sistema de detecção, a fluorescência verde resultante pode ser vista a olho nu sob luz de 485 nm ( WANG et al., 2020).

O grupo de Ma et al. (2020) adicionou ao uso de cátions divalentes aos crRNAs, como o manganês para melhorar a sensibilidade do método. Esse sistema foi descrito pelos autores como o sistema Cas12a aprimorado com manganês (MeCas12a), o qual aumentou a sensibilidade de detecção em 13 vezes, possibilitando a detecção de RNAs alvo mesmo em quantidades baixas. O MeCas12a detectou a síndrome respiratória aguda grave por coronavírus (SARS-CoV-2) em amostras clínicas e distinguiu entre SARS-CoV-2 e síndrome respiratória do Oriente Médio por coronavírus (MERS-CoV), os quais compartilham regiões altamente conservadas em seus ácidos nucléicos, tendo apenas alguns polimorfismos de nucleotídeo único. Desta forma, o uso de  $Mn^{2+}$  melhorou a detecção de ambos os vírus, sem a detecção falsa de um vírus sobre o outro.

Seguindo o uso do sistema CRISPR, Hou et al. (2020) criou o CRISPR-COVID, um ensaio baseado na Cas13a. Além de desenvolver o diagnóstico, eles compararam o mesmo entre três plataformas tecnológicas diferentes: sequenciamento metagenômico, RT-PCR e CRISPR. Esse grupo teve como alvo os genes ORF1ab e N

de SARS-CoV-2 e demonstrou melhor sensibilidade e especificidade com detecção de ORF1ab e através de seus dados clínicos demonstrou boa especificidade e sensibilidade.

Buscando otimizar a detecção do RNA viral, Fouzoni et al. (2020) desenvolveu um ensaio rápido baseado em CRISPR-Cas13a para detecção direta de RNA de SARS-CoV-2. Diferentemente dos outros ensaios, esse grupo usou uma técnica que não requer uma pré-amplificação do genoma viral para detecção, ele seria detectado diretamente através da fluorescência medida por uma câmera de telefone celular em um dispositivo compacto que inclui iluminação a laser de baixo custo. A técnica combina vários crRNAs que aumentam a ativação de Cas13a e analisa a mudança na fluorescência ao longo do tempo. O teste produz medições quantitativas do RNA viral.

#### **4 DETECÇÃO DE VARIANTES**

Embora se tenha a esperança de que a pandemia acabou, ela não acabou. Ela ainda está em evolução e novas ondas, impulsionadas por novas mutações, surgirão no tempo e no espaço, possivelmente ao longo dos anos. A vacinação em combinação com a vigilância do genoma SARS-CoV-2 são fundamentais para manter a pandemia sob controle (SCHMIDT et al.,2021).

Ao longo da pandemia causada pelo Covid-19, o SARS-CoV2 sofreu mutações. Essas mutações são clinicamente importantes e podem alterar a infectividade, gravidade ou susceptibilidade imunológica do SARS-CoV-2, as quais também são provavelmente resistentes a vacinas e capazes de reinfecções. A futura política de saúde pública e a resposta à pandemia precisarão do conhecimento da presença de tais variantes na população local e sua rápida identificação da introdução nas comunidades, e esforços a partir de desenvolvimento e melhora de diagnóstico feitas sob medida, como diagnósticos CRISPR, serão de suma importância (DEBOJYOTI et al.,2021).

Recentemente uma nova variante do SARS-CoV-2, B.1.1.529, também chamada de Ômicron, foi relatada à Organização Mundial da Saúde (OMS). Esta nova variante foi detectada pela primeira vez em espécimes coletados em 11 de novembro de 2021 em Botswana e em 14 de novembro de 2021 na África do Sul. Essa variante foi classificada como Variante de Preocupação (VOC). De acordo com o Centro de

Controle e Prevenção dos Estados Unidos (CDC) a vigilância genômica, ou seja, rastrear as novas variantes, permite detectar as melhores ferramentas para proteger a saúde pública (CDC,2021).

Os estudos acima mostram que o sistema CRISPR pode sim ser usado para diagnosticar a Covid-19, mas assim como outros vírus, o genoma SARS-CoV2 sofreu várias mutações durante sua passagem pelo hospedeiro humano, e os impactos positivos ou negativos exatos da maioria dos quais ainda estão sob investigação (MERCATELLI et al., 2020).

Ainda segundo Mercatelli et al (2020), novas mutações podem forçar o desenvolvimento de novas terapias antivirais, bem como a adaptação das atuais para enfrentar as novas estruturas moleculares do vírus, o monitoramento constante das mesmas será fundamental para rastrear o movimento do vírus entre os indivíduos e entre áreas geográficas.

Um grupo, através do desenvolvimento do Ensaio de Detecção Uniforme Vinculado ao Editor FnCas9 (FELUDA) detectou mutações pontuais na sequência do vírus SARS-CoV2 obtida a partir de amostras de pacientes. Os pesquisadores apresentaram o Rapid variant Assay (RAY), um avanço da plataforma FELUDA para identificar assinaturas mutacionais das variantes do coronavírus em uma amostra, eliminando a necessidade de sequenciamento. O RAY pode detectar com sucesso tanto a infecção quanto a presença da mutações e tendo em vista o aumento e a disseminação das variantes do vírus em vários países, é importante desenvolver tecnologias que possam detectar essas variantes com rapidez e precisão (KUMAR et al., 2021).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O padrão-ouro para diagnóstico da COVID-19 ainda possui algumas limitações, o que movimentou o mundo científico em busca de progresso e melhorias na obtenção de um diagnóstico mais rápido, eficaz e barato. Devido à sua simplicidade, velocidade, alta sensibilidade e especificidade, a técnica baseada em CRISPR/Cas vem sendo empregada para desenvolver novos métodos de detecção do genoma viral do novo coronavírus durante a pandemia e pode aumentar o número de



testes realizados, bem como auxiliar na identificação de variantes, que é preocupação mundial atualmente, uma vez que tais variantes podem

Demonstrou-se que métodos de detecção do SARS-CoV-2 baseados em CRISPR são baratos, sensíveis, específicos e não requerem instrumentos sofisticados. Embora eles usem componentes diferentes no desenvolvimento da técnica, todos buscam o resultado do teste de forma mais simples e rápida, uma vez que o teste padrão-ouro para doença ainda leva algumas horas para seu resultado. É importante destacar que estes ensaios seriam úteis para outros vírus e patógenos.

Apesar dos resultados promissores, por ser uma técnica relativamente nova e em ascensão, ainda são necessários mais estudos para chancelar o uso futuro da técnica em clínicas e hospitais em grande escala, além de avaliar o impacto na saúde pública, permitindo a acessibilidade a todas as camadas da sociedade. Os estudos realizados para desenvolvimento do diagnóstico de Covid-19 e suas variantes com o uso do CRISPR estão acessíveis somente na língua inglesa, durante a busca nenhum resultado em português foi encontrado.

A pandemia não acabou e com o aparecimento de novas variantes do SARS-CoV-2 é um desafio rastrear e controlar a disseminação de tais variantes, além de compreender quais consequências elas podem trazer para a população mundial. Futuras pesquisas sobre diagnósticos, como diagnósticos CRISPR, e sequenciamentos dessas mutações serão decisivos.

O uso do CRISPR pode reduzir o tempo necessário para o diagnóstico da Covid-19 e também facilitar o diagnóstico molecular em laboratórios de poucos recursos, o que o tornaria acessível a um número maior de pessoas. Além de facilitar no estudo genômico das variantes.

## REFERÊNCIAS

BROUGHTON, James P. et al. CRISPR–Cas12-based detection of SARS-CoV-2. **Nature Biotechnology**, [S.L.], v. 38, n. 7, p. 870-874, 16 abr. 2020. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-020-0513-4>. Acesso em: 09 nov. 2021

**CDC – Centers for Disease Control and Prevention.** Omicron Variant: What You Need to Know. CDC,2021. [Artigo] Disponível em: <  
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/omicron-variant.html>>. Acesso em: 06 dez.2021

DEBOJYOTI, Chakraborty. et al. Rapid identification and tracking of SARS-CoV-2 variants of concern. **The Lancet**, Volume 397, Issue 10282, 10–16 April 2021, Pages 1346-1347. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00470-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00470-0). Acesso em: 02 de dez. 2021

DE WIT, Emmie. et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. **Nat Rev Microbiol** **14**, 523–534 (2016).  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.81>. Acesso em: 11 out. 2021

FOZOUNI, Parinaz et al. “Amplification-free detection of SARS-CoV-2 with CRISPR-Cas13a and mobile phone microscopy.” *Cell*, *184*(2), 323–333.e9.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.12.001> Acesso em: 19 nov. 2021

GANBAATAR, Uyanga., & LIU, Changchun. (2021). CRISPR-Based COVID-19 Testing: Toward Next-Generation Point-of-Care Diagnostics. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, *11*, 663949. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.663949>. Acesso em: 18 nov. 2021

GUAN, Wei-jie et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2002032> . Acesso em: 18 nov. 2021

HUANG MD, Chaolin et al. Clinical feature sofpatients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**. 2020; 395(10223): 497-506.

HOU, Tieying.et al. 2020. Development and evaluation of a rapid CRISPR-based diagnostic for COVID-19. **PLoS Pathog** *16*(8): e1008705.  
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.100870> Acesso em: 11 nov. 2021

KUMAR, Manoj. et al. RAY: CRISPR diagnostic for rapid and accurate detection of SARS-CoV2 variants on a paper strip. *medRxiv*. 2021; (published online Feb 3.) (preprint). <https://doi.org/10.1101/2021.02.01.21250900> . Acesso em: 03 nov. 2021

LI, Xiaowei. et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of **COVID19**. **J Pharm Anal**. 2020; 10(2):102-108

LOEFFELHOLZ, Michael J. et al. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. **Emerging Microbes & Infections**, [S.L.], v. 9, n. 1, p. 747-756, 1 jan. 2020. Informa UK Limited.  
<http://dx.doi.org/10.1080/22221751.2020.1745095>. Acesso em: 16 set. 2021

MA, Peixiang et al. MeCas12a, a Highly Sensitive and Specific System for COVID-19 Detection. **Advanced science**, v. 7, n. 20, p. 2001300, 2020. [10.1002/advs.202001300](https://doi.org/10.1002/advs.202001300) . Acesso em: 01 dez. 2021

MERCATELLI, Daniele; GIORGI, Federico M. Geographic and genomic distribution of SARS-CoV-2 mutations. **Frontiers in microbiology**, v. 11, p. 1800, 2020. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01800> Acesso em: 01 dez. 2021

PALAZ, Fahreddin. et al. CRISPR-based tools: alternative methods for the diagnosis of covid19. **Clinical Biochemistry**, [S.L.], v. 89, p. 1-13, mar. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2020.12.011>. Acesso em: 20 de set. 2021

PEELING, Rosanna W. et al. COVID-19 rapid antigen tests: promises and challenges. **The Lancet Infectious Diseases**, fev. 2021. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(21\)00048-7](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(21)00048-7). Acesso em: 12 nov.2021

SCHMIDT, Maria et al. "The Evolving Faces of the SARS-CoV-2 Genome." **Viruses**, vol. 13,9 1764. 3 Sep. 2021. <https://doi.org/10.3390/v13091764>. Acesso em: 06 dez. 2021

XIANG, Xiaohong. et al. CRISPR-cas systems based molecular diagnostic tool for infectious diseases and emerging 2019 novel coronavirus (COVID-19) pneumonia. **Journal Of Drug Targeting**, [S.L.], v. 28, n. 7-8, p. 727-731, 26 maio 2020. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1061186x.2020.1769637>. Acesso em: 12 nov.2021

WANG, Xinjie et al. "Rapid and sensitive detection of COVID-19 using CRISPR/Cas12a-based detection with naked eye readout, CRISPR/Cas12a-NER." **Science bulletin** vol. 65,17 (2020): 1436-1439. doi:10.1016/j.scib.2020.04.041

WANG, Lisheng et al. Review of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) based on current evidence. **International journal of antimicrobial agents**, v. 55, n. 6, p. 105948, 2020.