



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA**

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

## **XXVII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2023**

Detecção molecular de vírus das famílias Coronaviridae e Adenoviridae circulantes em animais selvagens dentro do Estado da Bahia

**Matheus Ferreira Porto<sup>1</sup>; Rogério Mercês Ferreira Santos<sup>2</sup>; Dulcinéia Ferreira de Andrade<sup>3</sup>; Fernando Vicentini; Aristeu Vieira da Silva<sup>5</sup> e Ilka Biondi<sup>6</sup>**

1. Bolsista Probioc/Uefs, Graduando em Licenciatura em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [matheusferreiragaso@gmail.com](mailto:matheusferreiragaso@gmail.com)
2. Orientador, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [rfsantos@uefs.br](mailto:rfsantos@uefs.br)
3. Participante do projeto, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [dulciandrade@uefs.br](mailto:dulciandrade@uefs.br)
4. Participante do projeto, LABCOV, Universidade Federal do Recôncavo Baiano, e-mail: [vicentini@ufrb.edu.br](mailto:vicentini@ufrb.edu.br)
5. Participante do projeto, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [aristeuvsilva@uefs.br](mailto:aristeuvsilva@uefs.br)
6. Participante do projeto, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [ibiondi@uefs.br](mailto:ibiondi@uefs.br)

**PALAVRAS-CHAVE:** Detecção molecular; PCR, vírus

### **INTRODUÇÃO**

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização da Saúde Animal (OIE) reconhecem uma estreita conexão entre o ambiente e as doenças em animais que podem provocar doenças em humanos. Em paralelo, a Saúde Única agrega de forma integral ações em Saúde Pública na busca da redução dos riscos para a Saúde Global, o que possibilita ao Sistema Único de Saúde (SUS) múltiplas dimensões de vigilância sanitária à epidemiológica, incluindo doenças crônicas e agudas de diferentes origens. Os vírus da família Coronaviridae que circulam em várias espécies animais, foram caracterizados quanto à condição de alta morbimortalidade em humanos na epidemia da síndrome respiratória aguda grave (SARS) em 2002 e 2003 na província de Guangdong, China. Estes vírus infectam o trato respiratório, gastrointestinal, hepático e do sistema nervoso central do homem, como também infectam pássaros, morcegos, roedores, aves, répteis e vários outros animais selvagens (Rodríguez-Morales et al., 2020).

Em paralelo sabe-se que as mudanças climáticas, assim como a devastação e/ou a fragmentação dos habitats naturais dos animais selvagens têm provocado uma pressão seletiva na busca em explorar novos habitats. Simultaneamente com esse desequilíbrio ambiental novas doenças infecciosas, especialmente as virais vêm sendo evidenciadas com frequência como exemplo de origem zoonótica (Rodríguez-Morales et al., 2020).

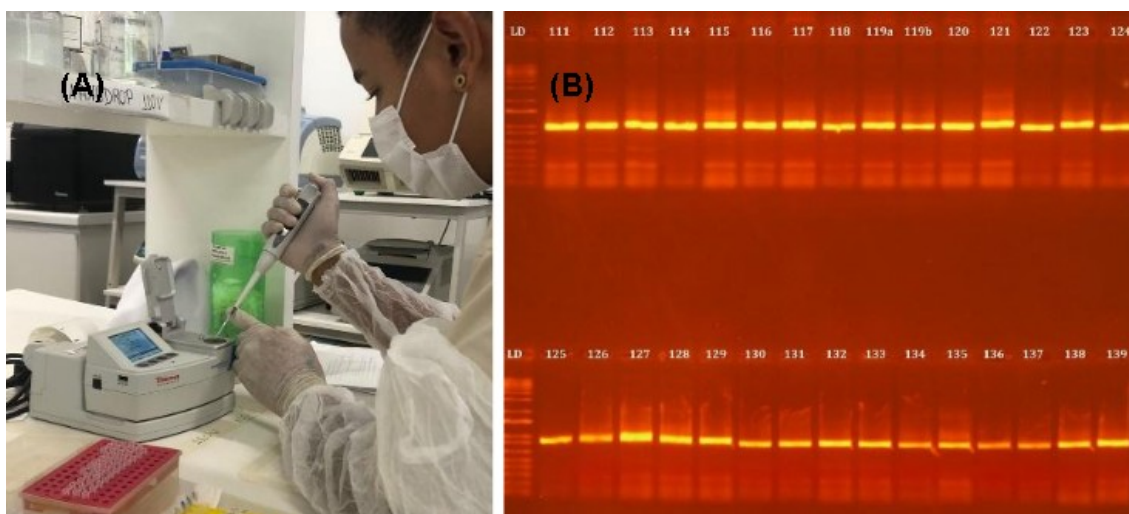
No Estado da Bahia, seus biomas com a vegetação primitiva, vem sendo modificado para a introdução de polos agrícolas (Freitas e Mendonça, 2016). Esta fragmentação coloca em risco a fauna nativa e gera o surgimento de zoonoses de vida selvagem. Considerando que os diversos vírus tem impacto na saúde humana e estes são candidatos para novos focos epidêmicos por estarem compartilhando com o homem o mesmo nicho ecológico, seja no ambiente periurbano e/ou urbano, este projeto de Iniciação científica se dedicará a extração de DNA/RNA, detecção e identificação dos vírus das famílias Coronaviridae e Adenoviridae em animais selvagens da Bahia utilizando as técnicas de RT-PCR e Nested-PCR, para posteriores etapas de

sequenciamento Sanger e após identificação, sequenciamento de nova geração (NGS) de possíveis vírus infectantes de animais selvagens.

Desta maneira, a etapa de identificação inicial por PCR dos vírus circulantes em animais selvagens da Bahia é ponto fundamental para iniciarmos a vigilância molecular de zoonoses virais no Estado da Bahia. Isto porque, a identificação de cepas virais permitirá o monitoramento em um processo sistêmico e contínuo das áreas críticas e/ou endêmicas dos vírus Coronavírus e os Adenovírus nestes animais selvagens. Portanto o objetivo dessa pesquisa é realizar a detecção inicial e identificação dos vírus das famílias Coronaviridae e Adenoviridae através de PCR e Nested-PCR em animais selvagens circulantes dentro do Estado da Bahia.

## **METODOLOGIA**

O trabalho foi dividido em duas etapas: a primeira etapa foi a extração do DNA e RNA. Para a extração de DNA e RNA virais foram utilizados o extrator automatizado de DNA/RNA Extracta (Loccus) e kits comerciais, segundo as orientações dos fabricantes. A quantificação dos ácidos nucleicos será realizada utilizando o Nanodrop 2000 (Thermo Scientific). Já na segunda etapa foi realizado a detecção e tipagem do DNA/RNA. Para essa etapa foi utilizado a técnica de nested RT-PCR para a detecção de Coronavírus (Cápua et al., 1999; Escustenaire et al., 2007). E para a detecção de Adenovírus foi utilizada a estratégia Pan-adenovirus PCR (Wellehan et al., 2004; Kaján, 2016; Jejesky de Oliveira et al., 2020).



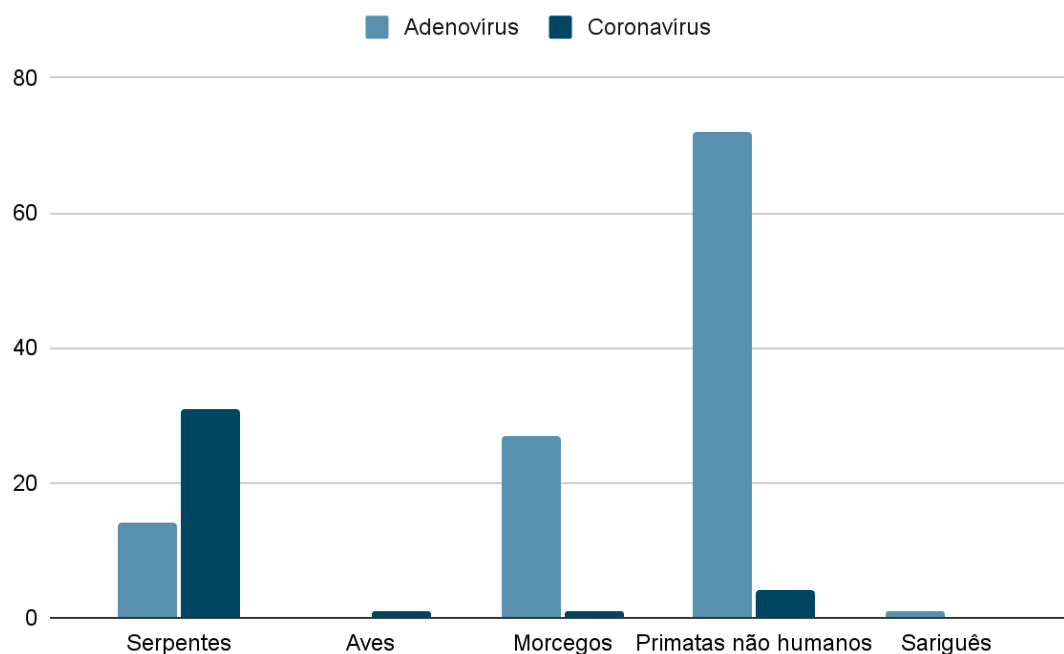
**Figura 1:** (A) Quantificação dos ácidos nucleicos utilizando o Nanodrop 2000 (Thermo Scientific) (B) Gel de eletroforese proveniente da técnica de nested RT-PCR.

## **RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO (ou Análise e discussão dos resultados)**

Até o momento foi realizada a identificação inicial de Adenovírus em amostras de 114 animais (13,20%) das 864 amostras examinadas, e de Coronavírus em 37 (8,80%) das 419 amostras avaliadas.

Até o momento, Coronavírus foi detectado em serpentes (31 amostras, 13,60%), aves (1 amostras, 3,13%), morcegos (1 amostras, 0,89%) e em quatro primatas não humanos (4,08%), enquanto que Adenovírus em 27 (24,11%) dos 112 morcegos avaliados, 72 (15,32%) dos primatas não humanos e um (7,14%) dos sariguês examinados.

### **Título:** Prevalência de Adenovírus e Coronavírus em Diferentes Espécies de Animais Selvagens



**Legenda:** Número de amostras de diferentes espécies de animais selvagens positivas para Adenovírus (azul claro) e Coronavírus (azul escuro). Os números indicam a quantidade de amostras infectadas encontradas em serpentes, aves, morcegos, primatas não humanos e sariguês.

Os resultados positivos foram apresentados apenas em morcegos. Esses animais eram provenientes de 24 localidades diferentes, com maior frequência de casos positivos para AdV encontrados em Santo Amaro (3,70%), Salvador (21,43%) e Feira de Santana (47,37%).

Das 228 amostras de serpentes avaliadas, 14 testaram positivo para AdV, com casos positivos encontrados com maiores frequência entre os animais nascidos em CCAPH-UEFS, localizada no município de Feira de Santana (5,13%) e para o município de Itaberaba (15,38%). CoV foi detectado em 29 das 204 amostras de serpentes testadas.

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Esses resultados preliminares demonstram a ocorrência de vírus potencialmente zoonóticos na vida selvagem, e uma investigação mais aprofundada das sequências genéticas envolvidas pode esclarecer o risco de propagação e emergência de patógenos potencialmente epidêmicos.

Todas as etapas deste plano de trabalho foram realizadas. Isso permitirá que o projeto ao qual o plano de trabalho do bolsista está vinculado passe para as outras etapas de seu desenvolvimento (sequenciamento, detecção viral e filogenia). Convém salientar que o projeto continua em andamento e novas amostras serão testadas até o seu término.

## REFERÊNCIAS

- CÁPUA, I.; MINTA, Z.; KARPINSKA, E.; MAWDITT, K.; BRITTON, P.; CAVANAGH, D.; GOUGH, R. E. Co-circulation of four types of infectious bronchitis virus (793/B, 624/1, B1648 e Massachusetts). *Avian Pathology*, v. 28, n. 6, p. 587-592, 1999.
- ESCUTENAIRE, S.; MOHAMED, N.; ISAKSSON, M.; THORÉN, P.; FREITAS, R. E.; MENDONÇA, M. A. A. Expansão agrícola no Brasil e a participação da soja: 20 anos. *Revista de Economia e Sociologia Rural*, v. 54, p. 497-516-516, 2016.
- KLINGEBORN, B.; BELÁK, S.; BERG, M.; BLOMBERG, J. SYBR Green real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for the generic detection of coronaviruses. *Archives of Virology*, v. 152, n. 1, p. 41-58, 2007.
- KAJÁN GL. Poultry adenoviruses. In: Liu D, editor. *Molecular detection of animal viral pathogens*. Boca Raton: CRC Press; 2016. pp. 735–746.
- JEJESKY DE OLIVEIRA AP, VALDETARO RANGEL MC, Z. VIDOVSZKY M, RODRIGUEZ-MORALES A.J., MACGREGOR K., KANAGARAJAH S., PATEL D., SCHLAGENHAUF P. Going global - travel and the 2019 novel coronavirus. *Trav Med Infect Dis*. 2020;33:101578.
- ROSSI JL, JR, VICENTINI F, HARRACH B, ET AL. Identification of two novel adenoviruses in smooth-billed ani and tropical screech owl. *PLoS ONE* 15(2): e0229415. 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229415>
- WELLEHAN JFX, JOHNSON AJ, HARRACH B, BENKŐ M, PESSIER AP, JOHNSON CM, et al. Detection and analysis of six lizard adenoviruses by consensus primer PCR provides further evidence of a reptilian origin for the adenoviruses. *J Virol*. 2004; 78: 13366–13369.