



**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*

**XXVI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS**  
**SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2022**

Estruturação e manutenção de um banco de amostras biológicas de animais selvagens do Estado da Bahia com foco na Vigilância Molecular de Coronavírus e Adenovírus

**Matheus Ferreira Porto<sup>1</sup>; Rogerio Mercês Ferreira Santos<sup>2</sup>; Fernando Vicentini<sup>3</sup>,  
Aristeu Vieira da Silva<sup>4</sup> e Ilka Biondi<sup>5</sup>**

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

**PALAVRAS-CHAVE:** Detecção molecular; banco de tecidos, 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.

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 (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020).

A fragmentação e a redução de habitats dos animais selvagens, associada ao comportamento e interação entre espécies tem permitido um salto entre espécies de vírus de alta morbimortalidade nas últimas décadas, tais como o SARS-CoV, o MERS, os arbovírus e recentemente o SARS-CoV-2 (YU et al., 2008; FOSTER et al., 2020). 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 trabalho tem o

objetivo de estruturar e manter um banco de amostras biológicas de animais selvagens e extrair DNA e RNA virais para identificar cepas virais circulantes no Estado da Bahia. A identificação de cepas virais permite o monitoramento em um processo sistêmico e contínuo das áreas críticas e/ou endêmicas dos vírus Coronavírus e os Adenovírus nestes animais selvagens. Para a detecção e identificação dos vírus das famílias *Coronaviridae* e *Adenoviridae* utilizando as técnicas de RT-PCR e Nested-PCR, com foco na Vigilância Molecular de Coronavírus e Adenovírus.

## **METODOLOGIA**

O trabalho foi dividido em três etapas: a primeira etapa foi a coleta fecal e sanguínea de animais vivos. As amostras fecais foram coletadas individualmente de todos os animais em recipientes plásticos esterilizados e acondicionadas em recipientes Eppendorf 2ml (em triplicata), identificado com o código de cativeiro, data da coleta e posteriormente armazenadas sob refrigeração (-80°C) sem nenhuma solução para conservação, segundo a metodologia de Duarte e colaboradores (2019). A coleta de sangue foi realizada por venopunção com volume de 0,5 mL com anticoagulante e foram armazenados em freezer a -20°C para posteriores análises moleculares. Animais mortos

A segunda etapa foi a coleta de tecidos de animais mortos, Os espécimes foram submetidos ao processo de necrópsia para identificar a causa morte a partir da observação dos órgãos internos, exame físico e macroscópico, para que pudessem ser constatadas possíveis patologias. Se constatado alguma patologia visível, amostras dos tecidos também foram separadas e estocadas no Banco de tecidos. Em sequência, outro processo executado, consistiu na coleta e armazenamento de órgãos e tecidos (tecido muscular, cérebro, pulmão, fígado e intestino delgado). Os métodos de coleta e armazenamentos adotados para os materiais coletados se diferenciam com base no tipo de amostra, as amostras de tecido coletadas foram armazenadas em eppendorfs criogênicos e congelados a -20°C. Os órgãos (cérebro, pulmão e fígado) e amostras de tecido com aproximadamente 5mm coletados foram submersos em formol tamponado em frascos de plástico com 500ml. As amostras de tecido muscular com ≈ 5mm, das regiões cervical, torácica e sacral, e intestino delgado foram armazenados em frascos transparentes de 250ml e/ou 500ml e congelados a -20°C (Figura 1).



**Figura 1:** Tipos de amostras biológicas coletadas no Laboratório de Animais Peçonhentos e Herpetologia - UEFS. **A** - Cérebro (*Boa Constrictor*); **B** - Sangue (*Boa Constrictor*); **C** - Tecido muscular (*Boa Constrictor*); **D** - Intestino Delgado e Grosso (*Boa Constrictor*); **E** - *Boa Constrictor*.

Por fim a terceira etapa foi a extração de DNA/RNA, para realizar a extração de DNA/RNA foi utilizado o kit EC-MXPA da Nova Biotecnologia e o equipamento de extração de ácidos nucleicos automatizado Extracta 32 (Loccus). Todas as extrações seguiram as recomendações dos fabricantes. O DNA/RNA extraído foi estocado em freezer -80 C.

## RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

O Banco de Amostras Biológicas de Animais Selvagens da Bahia com foco na Vigilância molecular de Coronavírus e Adenovírus está depositado em freezer -80 no LAPH, sendo que todas as amostras foram armazenadas em triplicata encontra-se hoje com um total de 311 amostras armazenadas oriundas de diferentes espécies:

- 172 amostras de fezes em triplicata (77 de serpentes do gênero Boídeos e *Crotalus*; 53 amostras de morcegos, 32 de aves e controles positivos para os vírus estudados)
- 127 amostras de sangue (127 de cascavel)
- 32 amostras de tecido de mamíferos (32 s de saguí)
- 25 amostras de tecidos e órgãos de serpentes (jibóias)



FORSTER, P., FORSTER, L., RENFREW, C., & FORSTER, M. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 117, n. 17, p. 9241-9243, 2020.

RODRIGUEZ-MORALES AJ, BALBIN-RAMON GJ, RABAAN AA, et al. Genomic Epidemiology and its importance in the study of the COVID-19 pandemic. *Infez Med.* 2020; 28 (2), 139-42.

YU, M., STEVENS, V., BERRY, J. D., CRAMERI, G., MCEACHERN, J., TU, C., WANG, L.-F. Determination and application of immunodominant regions of SARS coronavirus spike and nucleocapsid proteins recognized by sera from different animal species. *Journal of immunological methods*, v. 331, n. 1-2, p. 1-12, 2008.