

**XXVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS
SEMANA NACIONAL DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA - 2024****Detecção molecular e análises filogenéticas de vírus das famílias famílias
Coronaviridae e Adenoviridae circulantes em animais selvagens dentro do Estado
da Bahia**

**Matheus Ferreira Porto¹; Dulcinéia Ferreira de Andrade¹; Fernando Vicentini¹;
Aristeu Vieira da Silva²; Ilka Biondi¹ e Rogerio Merces Ferreira Santos²**

1. Bolsista Probic/Uefs, Graduando em Bacharelado 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, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: dulciandrade@uefs.br
4. Participante do projeto, LABCov, Universidade Federal do Recôncavo Baiano, e-mail: vicentini@ufrb.edu.br
5. Participante do projeto, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: aristeuvsilva@uefs.br
6. Participante do projeto, DCBIO, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: ibiondi@uefs.br

PALAVRAS-CHAVE: Vigilância; Detecção Molecular, SARS

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) e a Organização da Saúde Animal (OIE) reconhecem a íntima relação entre o meio ambiente e as doenças em animais, que podem ser transmitidas aos humanos. Neste cenário, a abordagem de Saúde Única emerge como uma estratégia essencial, integrando esforços em Saúde Pública para mitigar riscos à Saúde Global. O Sistema Único de Saúde (SUS) é assim capacitado a adotar uma vigilância abrangente, que abarca tanto doenças crônicas quanto agudas de diversas origens. Um exemplo alarmante dessa dinâmica é representado pelos vírus da família Coronaviridae, que provocaram surtos de alta morbimortalidade, como a epidemia de síndrome respiratória aguda grave (SARS) entre 2002 e 2003 na China. Esses vírus têm a capacidade de infectar múltiplos sistemas do corpo humano e são encontrados em uma variedade de animais, incluindo morcegos, aves e roedores, levantando preocupações sobre seu potencial zoonótico (Rodriguez-Morales et al., 2020).

Além disso, a crescente destruição de habitats naturais e as mudanças climáticas estão criando um ambiente propício para a emergência de novas doenças infecciosas, frequentemente de origem zoonótica. Na Bahia, a transformação de biomas nativos em áreas agrícolas (Freitas e Mendonça, 2016) representa uma ameaça significativa à fauna local e contribui para o surgimento de zoonoses. Considerando que esses vírus podem afetar a saúde humana e estão em contato próximo com as populações humanas, o presente projeto de Iniciação Científica se propõe a extrair DNA/RNA, detectar e identificar vírus das famílias Coronaviridae e Adenoviridae em animais selvagens da Bahia. Utilizando técnicas de RT-PCR e Nested-PCR, seguidas de sequenciamento Sanger e, em etapas posteriores, sequenciamento de nova geração (NGS), buscamos identificar potenciais vírus infectantes. Esta investigação inicial é fundamental para estabelecer um sistema de vigilância molecular para zoonoses virais no estado,

permitindo um monitoramento contínuo e eficaz das áreas críticas e endêmicas. Assim, o objetivo desta pesquisa é realizar a detecção e identificação de vírus dessas famílias em animais selvagens, criando uma base robusta para futuras intervenções em saúde pública e contribuindo para a compreensão dos riscos associados às interações entre humanos e a fauna silvestre.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado em quatro etapas principais. A primeira etapa envolveu a extração e quantificação de DNA e RNA de amostras de animais selvagens do LAPH, utilizando o extrator automatizado de DNA/RNA Extracta e o espectrofotômetro Nanodrop 2000 para garantir a qualidade dos ácidos nucleicos. Isso preparou as amostras para as etapas subsequentes. Na segunda etapa, foi aplicada a técnica de nested RT-PCR para detectar material genético viral da família Coronaviridae, convertendo RNA em cDNA e amplificando o material genético. A terceira etapa focou na amplificação de adenovírus por meio da técnica de Pan-adenovírus PCR, utilizando primers específicos. Por fim, na quarta etapa, os amplicons gerados foram purificados para sequenciamento, removendo contaminantes e assegurando a identificação precisa dos vírus presentes nas amostras analisadas (Cápuá *et al.*, 1999; Wellehan *et al.*, 2004; Escustenaire *et al.*, 2007; Kaján, 2016; Jejesky de Oliveira *et al.*, 2020).

RESULTADOS E/OU DISCUSSÃO

Até o momento, foi realizada a identificação inicial de Adenovírus em 13,20% das 858 amostras examinadas, totalizando 114 animais, e de Coronavírus em 8,80% das 419 amostras avaliadas, resultando em 37 detecções, conforme apresentado na Tabela 1. A caracterização filogenética ainda não foi realizada, pois depende do sequenciamento das amostras positivas, que está em andamento. Uma das principais dificuldades enfrentadas até agora foi o estabelecimento de um protocolo eficaz de purificação dos fragmentos de ácidos nucleicos a partir de géis de eletroforese. Diversas estratégias, utilizando diferentes métodos de purificação, foram testadas, mas sem sucesso até o momento.

Tabela 1. Frequência absoluta, frequência relativa e limites do intervalo de confiança 95% das classes de animais selvagens amostrados nos anos de 2020 a 2023 para pesquisa de Adenovírus e Coronavírus. Feira de Santana, BA, 2023

Classe	Frequência absoluta	Frequência relativa	Intervalo de Confiança 95%	
			Limite Inferior	Limite Superior
Aves	32	3,73	2,65	5,22
Mammalia	598	69,70	66,54	72,68
Reptilia	228	26,57	23,73	29,63
TOTAL	858	100,00		

Os resultados indicam que o Coronavírus foi detectado em serpentes (31 amostras, 13,60%), aves (1 amostra, 3,13%), morcegos (1 amostra, 0,89%) e em quatro primatas não humanos (4,08%). Já o Adenovírus foi identificado em 27 (24,11%) dos 112 morcegos avaliados, 72 (15,32%) dos primatas não humanos e em um sariguê (7,14%).

O estudo das sequências dos Coronavírus deverá esclarecer a natureza do gênero, sua proximidade filogenética ao SARS-CoV e seu potencial zoonótico. A análise de amostras de mamíferos poderá fornecer ainda mais informações sobre as cepas de Coronavírus circulantes entre animais selvagens na Bahia. Adicionalmente, foi iniciado um banco de amostras e dados, que inclui uma lista de espécies de animais coletados e outra com as amostras processadas, juntamente com os respectivos resultados dos exames moleculares.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esses resultados indicam a presença de vírus potencialmente zoonóticos em animais selvagens, e uma análise mais detalhada das sequências genéticas obtidas pode fornecer insights valiosos sobre o risco de disseminação e emergência de patógenos com potencial epidêmico. Todas as etapas previstas neste plano de trabalho foram concluídas ou parcialmente concluídas, o que permitirá ao projeto ao qual o plano de trabalho do bolsista está vinculado avançar.

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 atadenoviruses. *J Virol.* 2004; 78: 13366–13369.