

MESTRADO ACADÊMICO EM VIROLOGIA

Dissertações – 2023



Trabalho de Conclusão

Título: A EVOLUÇÃO VIRAL DO SARS-COV-2 E AS IMPLICAÇÕES DAS DIFERENTES LINHAGENS PARA A SAÚDE HUMANA

Autor: CRISTIANE BORBA LUCKMANN

Abreviatura: LUCKMANN, C. B.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 27/02/2023

Resumo: A COVID-19 (do inglês Coronavirus Disease 2019), surgiu no final do ano de 2019, na China e em pouco mais de dois anos registrou mais de 754 milhões de casos e 6,8 milhões de óbitos no mundo. O combate à pandemia iniciou-se com protocolos envolvendo o distanciamento social, higienização frequente das mãos, uso de máscaras e vacinação que, no Brasil, iniciou-se em janeiro de 2021. Diferentes variantes foram surgindo ao longo do tempo, porém, o presente estudo considera as linhagens que circulam ou já circularam no país no período após o início da imunização e são consideradas como VOCs (do inglês variants of concern) pela OMS: as variantes P.1 (Gama) e P.2 (Zeta), surgidas no Brasil; a B.1.617.2 (Delta) e suas sublinhagens, registradas primeiramente na Índia e a variante B.1.1.529 (Omicron), incluindo BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5 e linhagens descendentes, que foram registradas simultaneamente em diversos países do mundo. A presente pesquisa analisa a evolução viral, a partir de 801 amostras de swab nasofaríngeos diagnosticadas como positivas para SARS-CoV-2 pelo Laboratório de Microbiologia Molecular da Universidade Feevale, localizado no Rio Grande do Sul, Brasil. As amostras foram selecionadas através da análise semanal da frequência de casos positivos, optando-se pelos períodos em que identificou-se aumento no percentual de positividade, excluindo-se as amostras com CT menor que 30, sem material suficiente para análise e cujos dados dos pacientes eram insuficientes. Através da identificação das linhagens por RT-qPCR e sequenciamento de alto desempenho, o estudo avalia a relação entre a presença de mutações e aspectos clínicoepidemiológicos. Foram avaliados parâmetros de transmissibilidade e conduziu-se análise estatística com o objetivo de verificar a correlação dos parâmetros de transmissibilidade com as variantes circulantes no estado. A predominância de casos é de pacientes entre 18 e 59 anos, representando 81,15% das amostras, sendo 55,06% dessas, mulheres. A análise utilizando metodologia SOM (do inglês self-organized maps) para pacientes acometidos por Gamma e Omicron, gerou mapas que indicam as relações entre os dados obtidos dos paciente, apontando diferenças entre as duas linhagens nos parâmetros idade, status vacinal e número de dias de intervalo entre a última dose de vacina recebida e o momento do diagnóstico. Não foi observada diferença significativa nos valores de CT entre Gamma e Omicron. A condução desses estudos é relevante devido às possíveis influências das mutações para a saúde humana, pois para o desenvolvimento de estratégias de combate ao SARSCoV-2 é importante conhecer a genética do vírus e a influência das mutações na transmissibilidade e virulência.

Palavras-Chave: Mutações;coronavírus;COVID-19;NGS;sequenciamento de alto desempenho.

Abstract: COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) emerged at the end of 2019 in China and in just over two years recorded more than 754 million cases and 6.8 million deaths worldwide. The fight against the pandemic began with protocols involving social distancing, frequent hand hygiene, the use of masks and vaccination which, in Brazil, began in January 2021. Different variants have emerged over time, however, the present study considers the strains that circulate or have already circulated in the country in the period after the start of immunization and are considered VOCs (variants of concern) by the WHO: the P.1 (Gamma) and P.2 (Zeta) variants, which emerged in Brazil; B.1.617.2 (Delta) and its sublines, first registered in India, and variant B.1.1.529 (Omicron), including BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5 and descendant lines, which were registered simultaneously in several countries of the world. The present research analyzes



the viral evolution, from 801 nasopharyngeal swab samples diagnosed as positive for SARS-CoV-2 by the Molecular Microbiology Laboratory of Feevale University, located in Rio Grande do Sul, Brazil. The samples were selected through weekly analysis of the frequency of positive cases, opting for the periods in which an increase in the percentage of positivity was identified, excluding samples with CT less than 30, without sufficient material for analysis and whose data from the patients were insufficient. Through the identification of strains by RTqPCR and high-performance sequencing, the study evaluates the relationship between the presence of mutations and clinical-epidemiological aspects. Parameters of transmissibility were evaluated and a statistical analysis was conducted with the objective to verify the correlation of parameters of transmissibility with the variants circulating in the state. The predominance of cases is of patients between 18 and 59 years old, representing 81.15% of the samples, 55.06% of which are women. The analysis using SOM (self-organized maps) methodology for patients affected by Gamma and Omicron, generated maps that indicate the relationships between the data obtained from the patients, pointing out differences between the two lineages in the parameters age, vaccination status and the number of days interval between the last dose of vaccine received and the time of diagnosis. No significant difference was observed in CT values between Gamma and Omicron. Conducting these studies is relevant due to the possible influences of mutations on human health, as for the development of strategies to combat SARS-CoV-2 it is important to know the genetics of the virus and the influence of mutations on transmissibility and virulence.

Keywords: Mutations;coronavirus;COVID-19;NGS;genetic sequencing;high throughput sequencing.

Volume: U

Páginas: 56

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Biblioteca Paulo Sérgio Gusmão

Orientador: JULIANE DEISE FLECK

Acesso ao documento: <https://pergamum.feevale.br/acervo/285270>



Trabalho de Conclusão

Título: ATIVIDADE DOS FAGOS FEC.ESBL E FKP.ESBL NA FORMAÇÃO E ERRADICAÇÃO DE BIOFILMES DE *E. coli* e *Klebsiella* spp.

Autor: BRUNA DA SILVA VAZ

Abreviatura: VAZ, B. S.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 31/07/2023

Resumo: Os biofilmes estão presentes nas mais diferentes atividades desenvolvidas por seres humanos. No âmbito de saúde, os biofilmes são considerados de grande importância clínica, devido a sua associação com infecções decorrentes da contaminação de dispositivos invasivos, como cateteres e sondas. Os biofilmes são comunidades bacterianas imersas em uma matriz proteica que oferece proteção às formas celulares sésseis tornando-as menos suscetíveis aos antimicrobianos quando comparadas com as bactérias de vida livre. Embora os biofilmes sejam dificilmente afetados por agentes químicos e físicos, os bacteriófagos líticos são capazes de invadir a barreira protetora e atuar sobre as bactérias. Assim, o objetivo desse trabalho foi pesquisar a ação de bacteriófagos frente à formação e erradicação de biofilmes bacterianos produzidos por microrganismos de interesse clínico, como *E. coli* e *Klebsiella* spp. Foi determinado o perfil de sensibilidade aos antibióticos para todos os isolados bacterianos empregados, além da pesquisa de prófagos a fim de excluir bactérias lisogênicas do estudo. Foram empregados dois bacteriófagos sequenciados, o FEC.ESBL e o FKP.ESBL, que foram testados individualmente frente a isolados de *E. coli* e de *Klebsiella* spp. e também verificada a eficiência de plaqueamento de cada fago. Os fagos foram testados frente a formação e remoção de biofilmes dessas bactérias. Por fim, foi elaborado um coquetel com os fagos o qual foi testado frente aos isolados de *E. coli* e *Klebsiella* spp., bem como frente à formação e remoção de biofilmes formados pelas respectivas bactérias. Desta forma, foram avaliados 51 isolados de *Klebsiella* spp., sendo um isolado prófago positivo e 55 isolados de *E. coli*, dos quais 5 apresentaram prófago positivo. As demais bactérias que apresentaram prófago negativo, foram submetidas ao Host Range, para determinar a capacidade de cada um dos fagos em infectá-las. O FEC.ESBL infectou 28 (56%) isolados de *E. coli* e 1 (2%) isolado de *Klebsiella* spp.; enquanto FKP.ESBL infectou 19 (38%) isolados de *Klebsiella* spp. e 9 (18%) de *E. coli*. Para os testes de inibição e remoção do biofilme, o FEC.ESBL preveniu a formação de biofilme em 9/28 (32,1%) isolados de *E. coli* e removeu o biofilme em pelo menos um dos três tempos para 24/28 (85,7%) dos isolados. Em *Klebsiella* spp., o FKP.ESBL inibiu 11/19 (57,9%) e removeu 17/19 (89,5%) em pelo menos um dos tempos. Em relação ao pool de fagos, a inibição do biofilme ocorreu em 7/28 (25%) e 15/19 (78,9%), enquanto a remoção ocorreu em, ao menos um dos três tempos, 24/28 (85,7%) e 17/19 (89,5%) dos isolados de *E. coli* e *Klebsiella* spp., respectivamente. Diante dos resultados encontrados constatou-se que o pool de fagos foi mais ativo na inibição da formação do biofilme em *E. coli*, mas não foi igualmente importante em *Klebsiella* spp. Por outro lado, para fins de remoção do biofilme, o uso dos fagos isoladamente proporcionou resultados equivalentes ao uso do pool. A atividade lítica dos fagos apresentados neste estudo sugere seu potencial no combate à *E. coli* e *Klebsiella* spp. multirresistentes, atuando para prevenir a formação de biofilmes produzidos por essas bactérias, bem como na eliminação dos biofilmes por elas produzidos.

Palavras-Chave: Bacteriófagos; Coquetel de fagos; Enterobactérias

Abstract: Biofilms are present in many different human activities. In the healthcare setting, biofilms are considered of great clinical importance due to their association with infections arising from contamination of invasive devices such as catheters and probes. Biofilms are bacterial communities immersed in a protein matrix that offers protection to sessile cell forms making them less susceptible to antimicrobials when compared to free-living bacteria. Although biofilms are



hardly affected by chemical and physical agents, lytic bacteriophages are able to invade the protective barrier and act on bacteria. Thus, the aim of this work was to investigate the action of bacteriophages against the formation and eradication of bacterial biofilms produced by microorganisms of clinical interest, such as *E. coli* and *Klebsiella* spp. The antibiotic sensitivity profile was determined for all bacterial isolates used, in addition to the search for prophages in order to exclude lysogenic bacteria from the study. Two sequenced bacteriophages, FEC.ESBL and FKP.ESBL, were used and tested individually against isolates of *E. coli* and *Klebsiella* spp. and the plating efficiency of each phage was verified. The phages were tested against the formation and removal of biofilms of these bacteria. Finally, a phage cocktail was prepared and tested against *E. coli* and *Klebsiella* spp. isolates, as well as against the formation and removal of biofilms formed by the respective bacteria. In this way, 51 isolates of *Klebsiella* spp. were evaluated, being one isolate phage positive and 55 isolates of *E. coli*, of which 5 presented positive phage. The remaining bacteria were submitted to the Host Range, to determine the ability of each of the phages to infect them. FEC.ESBL infected 28 (56%) *E. coli* isolates and 1 (2%) *Klebsiella* spp. isolate; while FKP.ESBL infected 19 (38%) *Klebsiella* spp. and 9 (18%) *E. coli* isolates. For the biofilm inhibition and removal tests, FEC.ESBL prevented biofilm formation in 9/28 (32.1%) *E. coli* isolates and removed biofilm in at least one of the three times for 24/28 (85.7%) of the isolates. In *Klebsiella* spp., FKP.ESBL inhibited 11/19 (57.9%) and removed 17/19 (89.5%) in at least one of the times. Regarding the phage pool, biofilm inhibition occurred in 7/28 (25%) and 15/19 (78.9%), while removal occurred in at least one of the three times, 24/28 (85.7%) and 17/19 (89.5%) of *E. coli* and *Klebsiella* spp. isolates, respectively. The results showed that the phage pool was more active in inhibiting biofilm formation in *E. coli*, but was not equally important in *Klebsiella* spp. On the other hand, for biofilm removal purposes, the use of phages alone provided equivalent results to the use of the pool. The lytic activity of the phages presented in this study suggests their potential to combat multidrug-resistant *E. coli* and *Klebsiella* spp. and to prevent the formation of biofilms produced by these bacteria, as well as to eliminate the biofilms produced by them.

Keywords: Bacteriophages; Phage cocktail; Enterobacteriaceae

Volume: U

Páginas: 76

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Paulo Sergio Gusmão

Orientador: SIMONE ULRICH PICOLI

Acesso ao documento: <https://pergamum.feevale.br/acervo/286835>



Trabalho de Conclusão

Título: AVALIAÇÃO DA CIRCULAÇÃO DE AGENTES VIRAIS RESPIRATÓRIOS EM PACIENTES HOSPITALIZADOS EM PORTO ALEGRE, RIO GRANDE DO SUL

Autor: JAQUELINE RHODEN

Abreviatura: RHODEN, J.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 28/07/2023

Resumo: Com a disseminação do vírus SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) ao longo da pandemia de COVID-19 (Coronavirus Disease 2019), diferentes variantes do vírus foram detectadas. Porém com a administração de vacinas na população, ocorreu a diminuição no número total de casos e na gravidade. Além disso, os demais agentes virais respiratórios continuaram circulando. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar variantes de preocupação de SARS-CoV-2 e avaliar a circulação de agentes virais respiratórios em pacientes internados em um hospital da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Foram selecionados pacientes internados com sintomas respiratórios e que realizaram o teste para diagnóstico de COVID-19, sendo as características clínico-epidemiológicas coletadas do prontuário médico. Para caracterização das variantes foi realizado o sequenciamento através da Plataforma Illumina MiSeq. Para detecção dos agentes virais, as amostras foram, primeiramente, extraídas pelo kit MagMax™ e após quantificadas por meio de RT-qPCR com o auxílio de ensaios (Thermo Fisher Scientific™) com alvos específicos para: adenovírus humano C, bocavírus humano, coronavírus 229E, enterovírus humano, vírus influenza A e B, metapneumovírus, parainfluenza 1, 2, 3 e 4, vírus sincicial respiratório A e B, rinovírus humano 1 e 2, além de SARS-CoV-2. Os resultados foram analisados por meio de estatística descritiva e inferencial, como uso do teste qui-quadrado e regressão logística multivariada. A seleção de amostras ocorreu em junho e julho de 2022, totalizando 337 pacientes, sendo 7 excluídos por dados incompletos. Dos 330, 151 (46%) bebês ou primeira infância (0-4 anos), 39 (12%) crianças (0-12 anos), 53 (16%) adultos (13-59 anos), e 87 (26%) idosos (>60 anos). Os sintomas mais frequentemente encontrados foram tosse (73%), dispneia (55%) e febre (49%), e a comorbidade mais encontrada foi hipertensão arterial (22%). Do total de hospitalizações imunizados, 85 (26%) foram parcialmente vacinados e 70 (21%) apresentaram perfil completo. A variante Ômicron foi detectada nas 37 amostras selecionadas para o sequenciamento genético, sendo BA.5 (30%), XAG (16%) e BA.2 (14%) as sublinhagens mais frequentemente encontradas, respectivamente. SARS-CoV-2, vírus sincicial respiratório B e rinovírus humano 1, estiveram presentes em 60 (19%), 51 (15%) e 44 (15%) dos pacientes infectados, respectivamente. Em relação às coinfeções, 50 (15%) dos pacientes foram coinfectados com dois vírus e 25 (8%) com três ou mais. Nosso estudo mostra a sublinhagem BA.5 como predominante em um período onde a BA.2 era mais relatada. Além disso, com a disseminação comunitária de SARS-CoV-2, a circulação de outros agentes virais foi diminuída, porém infecções continuaram acontecendo, e as crianças foram as mais afetadas por coinfeções.

Palavras-Chave: vírus respiratórios;coinfecção;detecção viral;COVID-19

Abstract: With the dissemination of the SARS-CoV-2 virus (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) throughout the COVID-19 pandemic (Coronavirus Disease 2019), different variants of the original virus have been detected. However, with the administration of vaccines to the entire population, it was observed a decrease in the total number of cases and their severity. Additionally, other respiratory viral agents have continued to circulate. Thus, the objective of this study was to characterize SARS-CoV-2 variants of concern and evaluate the circulation of respiratory viral agents in hospitalized patients in a hospital in the city of Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Patients admitted with respiratory symptoms who realized COVID19 test. Clinical and epidemiological characteristics were collected from the



medical records. Genetic sequencing using the Illumina MiSeq platform was performed to characterize the variants. For viral agent detection, samples were first extracted using the MagMax™ kit followed by quantification using RT-qPCR. Specific targets were tested using assays (Thermo Fisher Scientific™) for human adenovirus type C, human bocavirus, coronavirus 229E, human enterovirus, influenza A and B viruses, metapneumovirus, parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4, respiratory syncytial virus A and B, human rhinovirus 1 and 2, and SARS-CoV-2. The results were analyzed using descriptive and inferential statistics, including the chi-square test and multivariate logistic regression. Sample selection took place in June and July 2022, comprising 337 patients, being 7 excluded due to lack of data. Of 330 patients, 151 were (46%) infants (0- 4 years), 39 (12%) children (0-12 years), 53 (16%) adults (13-59 years), and 87 (26%) elderly individuals (>60 years). The most frequently reported symptoms were cough (73%), dyspnea (55%), and fever (49%), and the comorbidity was arterial hypertension (22%). Out of the total number of hospitalizations, 21 resulted in death. Regarding COVID-19 vaccination, 175 (53%) were not immunized, 85 (26%) were partially vaccinated, and 70 (21%) had a complete vaccination profile. The Omicron variant was detected in the 37 samples selected for genetic sequencing, with BA.5 (30%), XAG (16%), and BA.2 (14%) being the most frequently found sublineages, respectively. SARS-CoV-2, respiratory syncytial virus B, and human rhinovirus 1 were the most detected, with 60 (19%), 51 (15%), and 44 (15%) infected patients, respectively. Regarding co-infections, 50 (15%) patients were co-infected with two viruses, and 25 (8%) were co-infected with three or more. Our study shows the BA.5 emphasis as predominant in a period where BA.2 was more reported. In addition, with the community spread of SARS-CoV2, the circulation of other viral agents was reduced, but preventable deaths continued, and children were the most infected by coinfections.

Keywords: respiratory viruses;coinfection;viral detection;COVID-19

Volume: U

Páginas: 95

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Paulo Sergio Gusmão

Orientador: CAROLINE RIGOTTO

Acesso ao documento: <https://pergamum.feevale.br/acervo/286165>



Trabalho de Conclusão

Título: AVALIAÇÃO DE VÍRUS ENTÉRICOS EM AMOSTRAS AMBIENTAIS DE PEQUENAS PROPRIEDADES RURAIS PRODUTORAS DE LEITE DA REGIÃO DO VALE DO PARANHANA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL.

Autor: MARIA GENESI MEIRELLES

Abreviatura: MEIRELLES, M. G.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 31/07/2023

Resumo: A pequena propriedade rural no Brasil representa uma das principais atividades econômicas desenvolvidas no país. O Rio Grande do Sul, na sua maioria é formado por propriedades familiares de agricultura familiar, sendo representativa economicamente. Dentro da visão One Health, onde existe uma estreita relação entre saúde humana, animal e meio ambiente, é de extrema importância o monitoramento do ambiente para conhecer possíveis rotas de transmissão relacionadas a doenças zoonóticas e fatores de risco associados. Dentre os vírus em amostras ambientais estão: adenovírus (HAdV) e Sapporo vírus (SaV), esses vírus entéricos podem estar em diferentes rotas de transmissão, possibilitando a contaminação e proliferação nas pequenas propriedades leiteiras. Portanto, este estudo tem como objetivo a investigação e detecção de vírus entéricos em amostras de água de consumo e residual, esterco bovino úmido e seco, e esterco suíno, obtidos de dez agroindústrias familiares da região do vale do Paranhana, situadas nos municípios de Rolante e Riozinho. As amostras foram coletadas em dois períodos, a saber: no outono, inverno, primavera e verão de 2022, e outono de 2023, totalizando 218 amostras, as amostras foram analisadas para os vírus HAdV e SaV através de PCR convencional e de qPCR. Para HAdV, das 218 amostras, 12 foram positivas para o vírus (duas águas residuais, duas águas de consumo, sete amostras de esterco suíno e uma amostra de esterco seco bovino). Para SaV, foram analisadas 218 amostras, sendo 21 positivas para o vírus (nove amostras de esterco suíno, quatro águas residuais, três de esterco seco bovino, e 5 de esterco úmido bovino). Foram detectados para SaV, os genogrupos GI, GII, GIV e GV. Nas águas de consumo, o “kit” Colilert® (IDDEX) foi utilizado para a detecção de coliformes totais e Escherichia coli, sendo que 51% das amostras foram positivas para a presença dessa bactéria. Esses dados são importantes para gerar informações sobre a qualidade dos recursos hídricos e do solo que ali estão presentes, bem como tais informações podem contribuir na detecção dos vírus que podem estar circulando entre os animais dessas áreas amostradas para futuros estudos epidemiológicos.

Palavras-Chave: Agricultura familiar; água; esterco; HAdV; SaV

Abstract: The small rural property in Brazil represents one of the main economic activities developed in the country. In Rio Grande do Sul, it is mostly formed by family farms of family agriculture, being economically representative. Within the One Health vision, where there is a close relationship between human, animal and environmental health, it is extremely important to monitor the environment to know possible transmission routes related to zoonotic diseases and associated risk factors. Among the viruses in environmental samples are adenovirus (HAdV) and sapporo virus (SaV), these enteric viruses may be in different transmission routes, allowing contamination and proliferation in small dairy farms. Therefore, this study aims to investigate and detect enteric viruses in samples of drinking and residual water, wet and dry cattle manure and swine manure, obtained from ten family agroindustries in the Paranhana valley region, located in the municipalities of Rolante and Riozinho. Samples were collected in (autumn, winter, spring and summer 2022) and (autumn 2023), totaling 218 samples and analyzed for viruses by conventional PCR and qPCR. For HAdV of the 218 samples, 12 were positive for the virus (2 waste water, 2 drinking water, 7 swine manure sample 1 dry bovine manure sample). For SaV, 218 samples were analyzed, 21 of which were positive for the virus (9 swine manure, 4 wastewater, 3 bovine dry manure and 5 wet bovine manure). Genogroups GI, GII, GIV and GV were detected for SaV. In drinking



water, the Colilert® kit (IDDEX) was used for the detection of total coliforms and Escherichia coli, and 51% of the samples were positive for the presence of Escherichia coli. These data are important to generate information about the quality of water and soil resources that are present there, as well as to contribute to the detection of viruses that may be circulating among animals for future epidemiological studies.

Keywords: Family farming;water;manure;HAdV;SaV

Volume: U

Páginas: 52

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Paulo Sergio Gusmão

Orientador: MARCIA REGINA LOIKO

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/286828>



Trabalho de Conclusão

Título: BACTERÍOFAGO FEC.ESBL NO CONTROLE DE Escherichia coli EM CARNE MOÍDA E PERFIL DE RESISTÊNCIA BACTERIANA DE ISOLADOS DE E. coli PERMISSIVOS AO FAGO

Autor: CAROLINA GIL FELTES

Abreviatura: FELTES, C. G.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 28/02/2023

Resumo: Bactérias patogênicas em alimentos, tais como Escherichia coli, constituem um problema enfrentado pela indústria alimentícia, principalmente em alimentos de origem animal. Muitas técnicas usadas para controlar essas contaminações não são totalmente eficazes e podem alterar o cheiro, sabor, textura e valor nutricional dos alimentos. Os bacteriófagos, vírus que infectam e lisam bactérias, constituem uma alternativa de biocontrole interessante, pois não trazem malefícios para o ambiente ou para o ser humano. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade lítica do fago FEC.ESBL em carne moída intencionalmente contaminada com E. coli ATCC 13706 através da técnica de Drop Plate e determinar a gama de hospedeiros do fago através do ensaio Host Range. Foram utilizadas três concentrações distintas do fago (102, 105 e 108 UFP/mL) para tratar o alimento contaminado e três tempos de análise (1, 3 e 8 dias). Verificou-se que a melhor ação bactericida foi obtida com o emprego da maior concentração do fago, resultando em média de lise de 95,26%. Junto disso, foram testados 100 isolados de E. coli frente ao fago para determinação da gama de hospedeiros. Observou-se que quatro isolados apresentavam prófago e foram excluídos do estudo, enquanto 32 foram permissivos à infecção fágica no teste Host Range (33,33%). Adicionalmente, foi realizado o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos dos isolados de E. coli permissíveis ao fago frente a antibióticos de cinco classes distintas. Constatou-se que 18,75% eram bactérias multirresistentes e 90,62% eram resistentes a ampicilina/sulbactam. A perspectiva é que os resultados obtidos nesse estudo possam estimular a utilização de fagos como ferramenta para o biocontrole de E. coli em alimentos no Brasil.

Palavras-Chave: Bacteriófagos; Drop Plate; Biocontrole em Alimentos; Host Range

Abstract: Pathogenic bacteria in food, such as Escherichia coli, constitute a problem faced by the food industry, mainly in animal origin foods. Many techniques used to control these contaminations are not fully effective and can change the smell, taste, texture and nutritional value of food. Bacteriophages, viruses that infect and lyse bacteria, are an interesting alternative for biocontrol, as they do not harm the environment or human beings. Thus, the objective of this work was to evaluate the lytic activity of the FEC.ESBL phage in minced meat intentionally contaminated with E. coli ATCC 13706 through the Drop Plate technique and to determine the phage host range through the Host Range essay. Three different phage concentrations (102, 105 and 108 PFU/mL) to treat the contaminated food and three analysis times (1, 3 and 8 days) were used. It was found that the best bactericidal action was obtained with the use of the highest phage concentration, resulting in an average lysis of 95.26%. In addition, 100 E. coli isolates were tested against the phage to determine the host range. It was observed that four isolates had prophage and were excluded from the study, while 32 were permissive to phage infection in the Host Range test (33.33%). Additionally, the antimicrobial susceptibility profile of phagepermissible E. coli isolates against antibiotics of five different classes was performed. It was found that 18.75% of the bacteria were multiresistant and 90.62% of them were ampicillin/sulbactam resistant. The perspective is that the results obtained in this study may stimulate the use of phages as a tool for the biocontrol of E. coli in foods in Brazil.

Keywords: Bacteriophages; Drop Plate; Biocontrol in Food; Host Range



Volume: U

Páginas: 36

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Biblioteca Paulo Sérgio Gusmão

Orientador: SIMONE ULRICH PICOLI

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/285212>



Trabalho de Conclusão

Título: CARACTERIZAÇÃO GENÔMICA DAS LINHAGENS CIRCULANTES DO VÍRUS INFLUENZA A/H3N2 VARIANTE DARWIN NO RIO GRANDE DO SUL NO ANO DE 2022

Autor: VYCTORIA MALAYHKA DE ABREU GOES PEREIRA

Abreviatura: PEREIRA, VYCTORIA MALAYHKA DE ABREU GOES

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 21/07/2023

Resumo: A dinâmica de casos de gripe no Brasil e no mundo nos anos de 2020 e 2021 foram notadamente afetados pela adoção de medidas de estratégias não farmacológicas, reduzindo drasticamente a circulação dos vírus influenza. A inserção da variante Darwin do vírus Influenzavirus A (FLUAV) H3N2, induziu uma onda incomum de casos de gripe durante o verão no Rio Grande do Sul no ano de 2022, gerando o ressurgimento do vírus influenza no estado. O presente estudo buscou identificar a circulação dos vírus FLUAV, FLUBV e SARS-CoV-2, e realizar caracterização do genoma dos vírus influenza em amostras de pacientes suspeitos de infecção pela COVID-19 no Rio Grande do Sul, com base na tecnologia de sequenciamento de alto desempenho. As 694 amostras respiratórias foram selecionados entre julho de 2021 e agosto de 2022. As detecções dos vírus foram realizadas por RT-qPCR, e os genomas virais de 20 amostras positivas para FLUAV (H3) foram submetidos ao sequenciamento pela plataforma Illumina MiSeq. Os genomas completos dos FLUAV H3N2/Darwin foram utilizados para caracterização filogenética e análise de mutações de aminoácidos. Os resultados do teste RTqPCR revelaram que 32,13% das amostras foram positivas para o SARS-CoV-2, 7,06% para o FLUAV (H3) e 0% para o FLUBV. Além disso, foi observada coinfeção entre FLUAV (H3) e SARS-CoV-2 em 0,57% dos pacientes. O sequenciamento obteve 15 genomas completos de FLUAV H3N2/Darwin, e a análise de filogenia das cepas demonstraram uma estreita relação entre esses vírus e a cepa vacinal utilizada na campanha de 2022. Em todos os oito segmentos, foram encontradas 73 mutações de aminoácidos, sendo possível encontrar mutações não sinônimas. Neste estudo, a detecção de casos de gripe causada pela FLUAV foi de 7,06%, sendo consideravelmente próxima a taxa de casos graves de gripe notificados no estado do Rio Grande do Sul (8,9%) durante o mesmo período de análise. Os dados do sequenciamento deste estudo, permitiram também a realização do primeiro estudo de caracterização genômica dos vírus influenza no estado durante a pandemia da COVID-19, além de fornecer informações importantes para o preparo para futuros surtos pandêmicos e epidêmicos.

Palavras-Chave: FLUAV (H3N2); Variante Darwin; Rio Grande do Sul; Caracterização genômica; Mutações não sinônimas

Abstract: The dynamics of influenza cases in Brazil and around the world in the years 2020 and 2021 were notably affected by the adoption of non-pharmacological strategies, drastically reducing the circulation of influenza viruses. The emergence of the Darwin variant of Influenzavirus A (FLUAV) H3N2 induced an unusual wave of influenza cases during the summer in the Rio Grande do Sul state in 2022, leading to the resurgence of the influenza virus in the region. This present study aimed to identify the circulation of FLUAV, FLUBV, and SARS-CoV-2 viruses and to perform genome characterization of influenza viruses in samples from suspected COVID-19 patients in the Rio Grande do Sul state, using high-throughput sequencing technology. A total of 694 respiratory samples were collected between July 2021 and August 2022. Virus detection was conducted through RT-qPCR, and the viral genomes of 20 FLUAV (H3) positive samples underwent sequencing using the Illumina MiSeq platform. The complete genomes of FLUAV H3N2/Darwin were utilized for phylogenetic characterization and amino acid mutation analysis. RT-qPCR test results revealed that 32.13% of the samples were positive for SARS-CoV-2, 7.06% for FLUAV (H3), and 0% for FLUBV. Additionally, coinfection between FLUAV (H3) and SARS-CoV-2 was observed in 0.57% of patients. Sequencing yielded 15 complete



genomes of FLUAV H3N2/Darwin, and the phylogenetic analysis of these strains demonstrated a close relationship with the vaccine strain used in the 2022 campaign. Across all eight segments, 73 amino acid mutations were found, including non-synonymous mutations. In this study, the detection of influenza cases caused by FLUAV was 7.06%, which was significantly close to the rate of severe influenza cases reported in the Rio Grande do Sul state (8.9%) during the same analysis period. The sequencing data from this study also allowed for the first genomic characterization of influenza viruses in the state during the COVID-19 pandemic, providing valuable insights for future pandemic and epidemic preparedness

Keywords: FLUAV (H3N2);Darwin variant;Rio Grande do Sul;Genomic characterization;Non-synonymous mutations

Volume: U

Páginas: 52

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Paulo Sergio Gusmão

Orientador: FERNANDO ROSADO SPILKI

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/286823>



Trabalho de Conclusão

Título: DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE VÍRUS ENTÉRICOS EM ROEDORES CAVÍDEOS E QUIRÓPTEROS MOLOSSÍDEOS, FILOSTOMÍDEOS E VESPERTILIONÍDEOS

Autor: ALEXANDRE SITA

Abreviatura: SITA, A.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 24/02/2023

Resumo: O Brasil possui dimensões continentais e uma imensa biodiversidade, com o maior número de espécies animais endêmicas em escala global. A invasão de ecossistemas naturais facilita o contato entre pessoas, animais domésticos e silvestres, favorecendo o intercâmbio de agentes virais. Sabe-se que roedores e quirópteros desempenham um papel crucial na transmissão de vários vírus, destacando-se o fato de atuar como reservatórios de agentes virais de grande importância na saúde única, como por exemplo membros das famílias Coronaviridae, Paramyxoviridae, Filoviridae, Hantaviridae e Arenaviridae. Além disso, muitas espécies são sinantrópicas, coabitando determinados espaços com seres humanos. A ecovigilância em espécies animais da ordem Rodentia e Chiroptera são extremamente relevantes para a saúde única. Portanto, este trabalho objetivou pesquisar, identificar e caracterizar vírus entéricos em roedores e morcegos em áreas urbanas, periurbanas e rurais. Desta forma, foi dividido em dois capítulos: No primeiro, buscou-se a pesquisa e caracterização de membros da família Adenoviridae em preás (*Cavia aperea aperea*) da região do sertão da Paraíba. No segundo, avaliou-se a presença de adenovírus e rotavírus em morcegos molossídeos, filostomídeos e vespertilionídeos capturados no Rio Grande do Sul no período de setembro de 2021 a julho de 2022. No primeiro capítulo, foram analisadas 14 amostras de suabes retais de preás por nested-PCR para detecção de adenovírus, onde duas amostras foram positivas e caracterizadas como mastadenovírus humano C (HAdV-C) após sequenciamento e análise filogenética. No segundo capítulo, foram analisadas 60 amostras de suabes retais por nested-PCR e RT-PCR para detecção de adenovírus e rotavírus, respectivamente. Todas as amostras testaram negativo para rotavírus e 13,3% (8/60) testaram positivo para adenovírus, sendo três classificadas como HAdV-C e cinco como HAdV-E. Desta forma, o presente estudo auxiliará na ecovigilância quanto a agentes virais geneticamente relacionados a patógenos de importância na saúde única.

Palavras-Chave: Mastadenovírus; Rotavírus; Sequenciamento; Ecovigilância; Saúde única

Abstract: Brazil has continental dimensions and immense biodiversity, with the largest number of endemic animal species on a global scale. The invasion of natural ecosystems facilitates contact between people, domestic and wild animals, favoring the exchange of viral agents. Rodents and chiropters are known to play a crucial role in the transmission of several viruses, highlighting the fact that they act as reservoirs of viral agents of great importance in One Health, such as members of the Coronaviridae, Paramyxoviridae, Filoviridae, Hantaviridae, and Arenaviridae families. In addition, many species are synanthropic, cohabiting certain spaces with humans. Ecovigilance in animal species of the order Rodentia and Chiroptera are extremely relevant to the One Health. Therefore, this work aimed to research, identify and characterize enteric viruses in rodents and bats in urban, peri-urban and rural areas. Thus, it was divided into two chapters: In the first, we sought the research and characterization of members of the Adenoviridae family in wild guinea pigs (*Cavia aperea aperea*) from Paraíba state. In the other one, we evaluated the presence of adenovirus and rotavirus in molossid, philostomid and vespertilionid bats captured in Rio Grande do Sul state from September 2021 to July 2022. In the first chapter, we analyzed 14 samples of rectal swabs from prey by nested-PCR for adenovirus detection, where two samples were positive and characterized as human mastadenovirus C (HAdVC) after sequencing followed by phylogenetic analysis. In the second chapter, 60 rectal swab samples were



analyzed by nested-PCR and RT-PCR for detection of adenovirus and rotavirus, respectively. All samples tested negative for rotavirus and 13.3% (8/60) tested positive for adenovirus, with three classified as HAdV-C and five as HAdV-E. Thus, the present study will assist in ecovigilance for viral agents genetically related to pathogens of One Health importance.

Keywords: Mastadenovirus; Rotavirus; Sequencing; Ecovigilance; One Health.

Volume: U

Páginas: 41

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Biblioteca Paulo Sérgio Gusmão

Orientador: MATHEUS NUNES WEBER

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/284942>



Trabalho de Conclusão

Título: FREQUÊNCIA RELATIVA DE MUTAÇÕES GENÔMICAS EM SEQUÊNCIAS DE SARS-CoV-2 DAS ONDAS DE GAMMA, DELTA E ÔMICRON E UM CASO DE INFECÇÃO PROLONGADA EM PACIENTE COM IMUNODEFICIÊNCIA PRIMÁRIA

Autor: MICHELI FILIPPI

Abreviatura: FILIPPI, MICHELI

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 20/07/2023

Resumo: Com a progressão da pandemia de COVID-19, o número de mutações no genoma viral se acumula em um processo continuado, sendo possível observar em tempo real a evolução do SARS-CoV-2 em seres humanos e a adaptação do vírus. Além do acúmulo de alterações resultante de um amplo número de pacientes infectados rotineiramente, infecções individuais de longo prazo também podem permitir incrementos da diversidade viral. O objetivo do presente trabalho foi analisar eventuais mutações ocorridas no genoma viral durante o curso de uma infecção prolongada por SARS-CoV-2, a partir de amostras consecutivas de swab nasoro-faríngeo coletadas entre agosto e dezembro de 2021 de um paciente imunocomprometido. Além deste caso especial, buscou-se analisar a possível relevância da presença de mutações no processo de evolução viral presentes em 115 sequências de SARS-CoV-2 provenientes de amostras de indivíduos residentes na região metropolitana de Porto Alegre no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, sob diferentes estágios e ondas da pandemia de COVID-19, determinadas por diferentes linhagens do SARS-CoV-2 (Gamma, Delta e Ômicron). Em ambos os trabalhos, o genoma das amostras clínicas foi sequenciado por meio de sequenciamento de alto desempenho e analisado usando um fluxo de trabalho para mapear leituras e encontrar variações/SNPs em populações virais e possíveis alterações do genoma viral ambiente intrahospedeiro. Foram avaliadas as eventuais alterações de aminoácidos presentes nas leituras das sequências. Além disso, as amostras do caso de infecção prolongada foram isoladas em cultura de células e foi realizado o ensaio de formação de placa de lise, sendo o vírus isolado em todas as amostras. Identificou-se 20 mutações comuns entre as 3 leituras das sequências de infecção prolongada, encontradas nas proteínas ORF1ab e ORF10. Assim como, um número considerável de mutações incomuns foi encontrado. Já nas demais 115 sequências de SARSCoV-2 analisadas, foram encontradas na linhagem Gamma, 11 mutações comuns entre as amostras, sendo 1 no gene ORF1ab, 7 no gene S, 2 no gene ORF6 e 1 no gene ORF7a. Enquanto na linhagem Delta, um total de 11 mutações distribuídas nos genes ORF1ab, S, ORF7a e N, foram encontradas 2, 7, 1 e 1 mutação em cada gene, respectivamente. E por fim, na linhagem Ômicron foram identificadas 16 mutações, sendo 2 no gene ORF1ab, 12 no gene S e 2 no gene M. Em conclusão, enfatiza-se que a vigilância genômica é uma ferramenta útil para avaliar como as mutações desempenham um papel fundamental na adaptação do vírus, seu processo de susceptibilidade a novos hospedeiros mostrando os possíveis sinais precoces de evolução viral.

Palavras-Chave: Evolução Viral; Infecção persistente; Mutações; SARS-CoV-2; Sequenciamento

Abstract: Following the COVID-19 pandemic progression, the number of mutations in the viral genome accumulates in a continuous process, making it possible to observe in real-time the evolution of SARS-CoV-2 in humans and the virus adaptation. In addition to the accumulation of changes resulting from a large number of routinely infected patients, long-term individual infections may also allow an increase in viral diversity. The objective of the present study was to analyze possible mutations that occurred in the viral genome during the course of a SARSCoV-2 prolonged infection, from consecutive naso-oropharyngeal swab samples collected between August and December 2021 from an immunocompromised patient. In addition to this special case, we aimed to analyze the possible relevance of the



presence of mutations in the viral evolution process present in 115 SARS-CoV-2 sequences from samples of individuals residing in the metropolitan region of Porto Alegre in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, under different stages and waves of the COVID-19 pandemic, determined by different SARSCoV-2 lineages (Gamma, Delta and Omicron). In both works, the genome of clinical samples was sequenced using high-throughput sequencing and analyzed using a workflow to map reads and find variations/SNPs in viral populations and possible alterations of the intra-host viral genome. Alterations of amino acids present in the sequence reads were evaluated. In addition, samples from the case of the prolonged infection were isolated in cell culture and a lysis plaque formation assay was performed, with the virus isolated in all samples. 20 common mutations were identified among the 3 sequence reads from the prolonged infection, found in the ORF1ab and ORF10 proteins. As well, a considerable number of unusual mutations were found. In the other 115 sequences of SARS-CoV-2 analyzed, 11 mutations common among the samples were found in the Gamma lineage, 1 in the ORF1ab gene, 7 in the S gene, 2 in the ORF6 gene and 1 in the ORF7a gene. While in the Delta lineage, a total of 11 mutations distributed in the ORF1ab, S, ORF7a and N genes, 2, 7, 1 and 1 mutation were found in each gene, respectively. And finally, in the Omicron lineage, 16 mutations were identified, 2 in the ORF1ab gene, 12 in the S gene and 2 in the M gene. In conclusion, we emphasize that genomic surveillance is a useful tool to assess how mutations play a role fundamental in the adaptation of the virus, its process of susceptibility to new hosts showing the possible early signs of viral evolution.

Keywords: Viral Evolution; Persistent infection; Mutations; SARS-CoV-2; Sequencing

Volume: U

Páginas: 51

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Paulo Sergio Gusmão

Orientador: FERNANDO ROSADO SPILKI

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/286826>



Trabalho de Conclusão

Título: OCORRÊNCIA DE SARS-CoV-2 E MASTADENOVÍRUS HUMANO (HAdV) EM MATRIZES AMBIENTAIS PROVENIENTES DE UMA ESTAÇÃO DE TRATAMENTO DE ESGOTO COM SISTEMA DE DESINFECÇÃO ULTRAVIOLETA

Autor: JANAINA FRANCIELE STEIN

Abreviatura: STEIN, J. F.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 24/02/2023

Resumo: A eliminação de títulos de RNA do SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) por indivíduos infectados, permite o monitoramento ambiental para rastrear a disseminação da COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) em uma comunidade. O objetivo deste estudo foi avaliar a recuperação viral de dois métodos de concentração em esgoto e lodo, e realizar o monitoramento ambiental do SARS-CoV-2 destas amostras, provenientes de uma Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) em Canela, RS, que apresenta um sistema de tratamento terciário com desinfecção por radiação ultravioleta (UV). Deste modo, também objetivou-se avaliar a eficiência do sistema de tratamento com UV na inativação de Mastadenovírus Humano (HAdV) e SARS-CoV-2. Inicialmente, foram avaliadas duas técnicas de concentração: ultracentrifugação e precipitação com polietilenoglicol (PEG). Para estabelecer o desempenho dessas técnicas, foram utilizados o Coronavirus Murino (MHV-3) e o SARSCoV-2 inativado, como controles de recuperação. Foram realizados 13 coletas ao longo de oito meses, entre outubro de 2021 e maio de 2022, totalizando 39 amostras de esgoto, coletadas em diferentes pontos da ETE, sendo: esgoto bruto, esgoto intermediário (após o tratamento físico-químico) e esgoto tratado (após UV); e um total de 26 amostras de lodo bruto e tratado. Para realização do monitoramento ambiental foram utilizadas 13 amostras de esgoto e lodo bruto. Duas coletas independentes foram realizadas em outubro e novembro/2022, totalizando 24 amostras. Após, os genomas virais foram extraídos utilizando o kit MagMax™ e a amplificação foi realizada por qPCR. Entre os dois métodos de concentração viral, a ultracentrifugação apresentou maior eficiência na recuperação em ambos os controles, com taxas significativamente maiores ($p < 0,05$) para MHV-3 (24% esgoto bruto, 38% esgoto tratado) e os percentuais médios encontrados para SARS-CoV-2 foram de 0,04% esgoto bruto e 20% em esgoto tratado. Em relação ao monitoramento ambiental do SARS-CoV-2, 99% das amostras foram positivas em ambas as matrizes avaliadas, para as amostras de esgoto bruto houve variação na quantificação viral de $1,72 \times 10^2$ a $8,93 \times 10^3$ cópias genômicas/litro (cg/L), e para as amostras de lodo bruto variando de $1,12 \times 10^2$ a $5,37 \times 10^3$ cg/g (grama). Ao relacionar as amostras ambientais e o número de casos clínicos, não houve influência significativa ($p > 0,05$), inferindo que os indivíduos assintomáticos e casos clínicos ubnotificados, influenciam na falta de correlação com as cargas virais detectadas no ambiente. Demonstrando a importância da vigilância ambiental como ferramenta de auxílio no rastreamento viral. Os resultados obtidos na avaliação do sistema de tratamento utilizando HAdV e SARS-CoV-2, mostrou que houve decaimento significativo nos títulos virais de ambos os vírus entre as etapas do tratamento ($p < 0,001$), sendo os valores em esgoto bruto, estatisticamente maiores que no intermediário ($p < 0,001$) e esgoto tratado ($p < 0,001$). Para HAdV as cargas virais médias detectadas no esgoto bruto foram de $7,83 \times 10^7$ cg/L, no intermediário foram $3,75 \times 10^6$ cg/L e no esgoto tratado $7,46 \times 10^5$ cg/L. Em relação ao SARS-CoV-2, as quantificações médias para esgoto bruto, intermediário e esgoto tratado foram de $2,85 \times 10^3$ cg/L, $4,39 \times 10^2$ cg/L e $2,33 \times 10^2$ cg/L, respectivamente. Esses resultados evidenciaram uma diminuição progressiva no número de amostras positivas e nas cargas virais ao longo do sistema de tratamento para os dois vírus analisados. Os fragmentos genômicos do HAdV, embora tenham diminuído ao longo do sistema, ainda foram lançados no corpo hídrico que recebe o esgoto final com altas cargas virais. É importante ressaltar que os valores de concentração alcançados no efluente tratado não são indicativos de vírus infecciosos.

Palavras-Chave: COVID-19; Vírus entéricos; Águas residuais; WBE



Abstract: The elimination of SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) RNA titers by infected individuals allows environmental monitoring to track the spread of COVID19 (Coronavirus Disease 2019) in a community. The aim of this study was to evaluate the viral recovery of two methods of concentration in wastewater and sewage sludge, as well as to carry out the environmental monitoring of SARS-CoV-2 of these samples, from a Wastewater Treatment Plant (WWTP) in Canela, RS, which presents a tertiary treatment system with disinfection by UV radiation. The aim was also to evaluate the efficiency of the UV treatment system in the inactivation of Human Mastadenovirus (HAdV) and SARS-CoV-2. Initially, two concentration techniques were evaluated: ultracentrifugation and polyethylene glycol (PEG) precipitation. To establish the performance of these techniques, Murine Coronavirus (MHV3) and inactivated SARS-CoV-2 were used as internal controls. The collection of samples for viral detection took place fortnightly over eight months between October 2021 and May 2022, totaling 39 sewage samples, collected at different points of the WWTP, namely: raw sewage, intermediate stage of the process and treated sewage; and a total of 26 samples of raw and treated sludge. Two independent collections were carried out in October and November 2022, totaling 24 samples, to perform the WWTP efficiency analysis. Afterward, nucleic acids from HAdV and SARS-CoV-2 were extracted using the MagMax™ kit and amplification was performed by qPCR. Between the two evaluated methods, ultracentrifugation demonstrated greater efficiency in viral recovery in both controls, with significantly higher rates ($p < 0.05$) for MHV-3 (24% raw sewage, 38% treated sewage) and average rates found for SARS-CoV-2 were 0.04% in raw sewage and 20% in treated sewage. Regarding environmental monitoring of SARSCoV-2, 99% of the samples were positive in both matrices evaluated, for the raw sewage samples there was a variation in viral quantification from 1.72×10^2 to 8.93×10^3 genomic copies/liter (cg/ L), and for raw sludge samples ranging from 1.12×10^2 to 5.37×10^3 cg/g (gram). When relating environmental samples and the number of clinical cases, there was no significant influence ($p > 0.05$), inferring that asymptomatic individuals and underreported clinical cases influence the lack of correlation with viral loads detected in the environment. Demonstrating the importance of environmental surveillance as a tool to aid in viral tracking. The results obtained in the evaluation of the treatment system using HAdV and SARS-CoV-2, showed that there was a significant decrease in the viral titles of both viruses between the treatment stages ($p < 0.001$), with the values in raw sewage being statistically higher than in intermediate ($p < 0.001$) and treated sewage ($p < 0.001$). For HAdV, the average viral loads detected in raw sewage were 7.83×10^7 cg/L, in intermediate were 3.75×10^6 cg/L and in treated sewage 7.46×10^5 cg/L. Regarding SARS-CoV-2, the average quantifications for raw, intermediate and treated sewage were (2.85×10^3 cg/L, 4.39×10^2 cg/L and 2.33×10^2 cg/L), respectively. These results showed a progressive decrease in the number of positive samples and viral loads throughout the treatment system for the two viruses analyzed. HAdV genomic fragments, although they have decreased along the system, were still released into the water body that receives the final sewage with high viral loads. It is important to point out that the concentration values achieved in the treated effluent are not indicative of infectious viruses.

Keywords: COVID-19; Enteric viruses; Wastewater; WBE

Volume: U

Páginas: 73

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Biblioteca Paulo Sérgio Gusmão

Orientador: CAROLINE RIGOTTO

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/285278>



Trabalho de Conclusão

Título: VALIDAÇÃO IN SILICO DE ALVOS ESPECÍFICOS PARA DETECÇÃO DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA DO TIPO 2 **Autor:**

LARISSA MALLMANN

Abreviatura: MALLMANN, L.

Tipo do Trabalho: DISSERTAÇÃO

Data da Defesa: 28/02/2023

Resumo: O vírus da imunodeficiência humana 2 (Human immunodeficiency virus - HIV-2), um dos causadores da AIDS, tem sido negligenciado pela comunidade científica. A carência de estudos referentes à patogenicidade, infecção, epidemiologia, tratamento e diagnóstico é evidente, ainda mais quando comparado aos estudos sobre o HIV-1. Isso deve-se ao menor número de infecções pelo HIV-2, sendo estimado entre 0,3 a 1% do total de casos de HIV. A maior porcentagem de casos de HIV-2 é relatada na África Ocidental, cujos países ainda estão em desenvolvimento. Muitos africanos migram desta região para os demais continentes, em busca de melhor qualidade de vida.

Continents como a Europa, América do Sul, América do Norte e Ásia relatam a incidência de casos de HIV-2. No Brasil, três estudos apresentaram casos de infecções pelo HIV-2, porém, metodologias para realizar o diagnóstico da infecção são escassas, como o caso de técnicas moleculares para a sua detecção, sendo mais comumente reportadas técnicas imunológicas. Com isso, o desenvolvimento deste trabalho teve o intuito de padronizar a detecção molecular do HIV-2 por protocolos de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) convencional, de uma e duas reações (nested), por meio de análises in silico e in vitro. A análise in silico foi realizada a partir de ferramentas da plataforma BLAST do NCBI e por alinhamento múltiplo de sequências. Os protocolos in vitro foram desenvolvidos empregando um controle positivo de HIV-2 sintetizado em plasmídeo. Foram testadas, in vitro, 56 amostras de indivíduos HIV-1 positivos em teste imunológico. Os resultados in vitro foram visualizados por eletroforese em gel de agarose. A especificidade foi considerada pelas análises in silico, uma vez que não houve reação cruzada dos primers com nenhum outro agente viral humano e pelo êxito no anelamento dos primers com o controle positivo. Já a sensibilidade das técnicas foi determinada pela visualização de bandas nas concentrações de 1×10^{-6} ng/ μ L e 1×10^{-11} ng/ μ L, para as PCRs de uma e duas reações, respectivamente, na eletroforese. Todas as amostras de voluntários da pesquisa foram negativas para HIV-2 em ambas metodologias testadas, sugerindo uma baixa circulação deste agente na região, assim como em outras localidades do mundo. O desenvolvimento de técnicas moleculares para a detecção do HIV-2 é relevante como estratégia para controle e combate contra a AIDS no País, visto que há casos no território brasileiro relatados na literatura.

Palavras-Chave: HIV-2; PCR convencional; Teste molecular.

Abstract: Human immunodeficiency virus 2 (HIV-2), one of the causes of AIDS, is neglected by the scientific community. The lack of studies regarding pathogenicity, infection, epidemiology, treatment, and diagnosis is evident, even more so when compared to studies on HIV-1. This is due to the lower number of HIV-2 infections, estimated at between 0.3 and 1% of all HIV cases. The highest percentage of HIV-2 cases has been reported in West Africa, whose countries are still developing. Many Africans migrate from this region to other continents seeking a better quality of life. Continents such as Europe, South America Asia, and the United States, are reporting a higher incidence of HIV-2 cases. In Brazil, three studies presented cases of HIV-2 infections, however, methodologies for diagnosing the infection are scarce, such as molecular techniques for its detection, immunological techniques being more commonly reported. Thus, this work aimed to standardize a molecular detection of HIV-2 by two conventional Polymerase Chain Reaction (PCR) protocols with one and two reactions (nested), analyzing them in silico and in vitro. The in silico analysis was performed using NCBI



platform tools and multiple sequence alignment. The in vitro protocols were developed using a positive control of HIV-2 synthesized in a plasmid. Samples of 56 HIV-1 positive individuals by immunological test were tested in the in vitro methods. These results were visualized by electrophoresis in agarose gel. The specificity was considered by the in silico analysis, since there was no primer cross-reaction with any other human viral agent and by the successful annealing of the primers with the positive control. The sensitivity of the PCRs were determined by viewing bands at concentrations of 1×10^{-6} ng/ μ L and 1×10^{-11} ng/ μ L for one and nested reaction PCRs, respectively. All samples from research volunteers were negative for HIV-2 in both methods, suggesting a low circulation of this agent in the region, as well as in other locations around the world. The development of molecular techniques for the detection of HIV-2 is fundamental as a strategy to control and combat AIDS in the country since there are cases in the Brazilian territory reported in the literature.

Keywords: Conventional PCR;HIV-2;Molecular test

Volume: U

Páginas: 27

Idioma: PORTUGUES

Biblioteca Depositada: Biblioteca Paulo Sérgio Gusmão

Orientador: JULIANE DEISE FLECK

Acesso: <https://pergamum.feevale.br/acervo/285234>

