

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE DETECÇÃO MOLECULAR DE ADENOVÍRUS
DE DIFERENTES ESPÉCIES HOSPEDEIRAS EM AMOSTRAS DE ÁGUA**

Rafael Bandeira Fabres, Mariana Kluge, Marina Bortoluzzi e Fernando Rosado Spilki
(orient)

Universidade Feevale; rafafabres@hotmail.com; fernandors@feevale.br

Dentre os vírus entéricos candidatos a bioindicadores da qualidade virológica das fontes hídricas estão os Adenovírus (AdV), que pertencem à família *Adenoviridae*. Nas diversas espécies animais e em seres humanos há AdVs que são excretados em grande quantidade pela via fecal, mesmo a partir de indivíduos sadios. A detecção e concomitante diferenciação do AdV conforme sua espécie hospedeira presente em uma matriz ambiental pode ser uma ferramenta interessante no intuito de determinar as fontes de contaminação fecal dos recursos hídricos em uma determinada região. Assim este estudo se deteve à padronização de uma reação em cadeia da polimerase em tempo real complementada por curva de dissolução de alta resolução (HRM), cujos primers foram desenhados de forma a detectar diferentes adenovírus de origem humana (HadV), bovina (BAV), canina (CAV) e aviária (EDS-76). O HadV foi cultivado em células A549 e titulado em microplacas para calibração da curva padrão. Para extração de ácidos nucléicos virais foi utilizado o kit comercial RTP DNA/RNA Virus Mini Kit (Invitex). O DNA obtido foi usado como molde para a amplificação por qPCR. A reação de qPCR foi realizada utilizando SyberGreen com os primers denominados ADV-F1 (5'-CAGTGGTTCGTACATGCACAT-3') e ADV-R1 (5'-TCGGTGGTGACGTCGTGG-3'), que amplificam em torno de 130 pb do fragmento genômico alvo. Quanto à sensibilidade analítica, observou-se que o protocolo padronizado é capaz de detectar fragmentos genômicos alvos no limiar de uma partícula viral presente na amostra, tendo em vista que em uma suspensão viral cuja carga viral inicial era de $10^{4.5}$ DICC /50uL (Doses infecciosas para 50% dos cultivos celulares/50uL), conforme ensaio de titulação realizado, detectou-se o DNA em uma diluição de 10^{-6} da suspensão viral. Cada espécie adenovíral apresentou uma temperatura distinta na curva de dissociação. Esta padronização é relevante para rastrear a fonte da contaminação fecal.

(Apoio: FAPERGS/ CNPq/ CAPES)