

Utilização de partículas virais de SARS-CoV-2 como modelo de avaliação de biomaterial à base de amido de milho contendo óleo essencial: estratégia inovadora de biorremediação.

VITHOR PARADA GARCIA¹; VICTOR DOS SANTOS BARBOZA, CLEITON JESUS ANDRADE PEREIRA, MIKAELE VALÉRIO TAVARES²; JANICE LUEHRING GIONGO³. RODRIGO DE ALMEIDA VAUCHER⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – paradavithor@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – victorbarboza10@gmail.com; andradec556@gmail.com;

³Universidade Federal do Rio Grande - janicegiongo@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – rodvaucher@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O vírus SARS-CoV-2, da família Coronaviridae, é o agente causador da doença conhecida como COVID-19 (UZUNIAN, 2020). A gravidade da COVID-19 varia, podendo apresentar sintomas leves, moderados ou graves, incluindo tosse, dor de garganta, febre e pneumonia severa, além de alguns indivíduos serem assintomáticos (Ministério da Saúde, 2021). A excreção de partículas virais ocorre em alta carga pelos fluidos faciais, assim como também nas fezes e na urina, o que contribui para a detecção do RNA viral em águas residuais. Conforme o estado de preservação do material genético do vírus, este pode permanecer estável num intervalo de dias ou até semanas (WEISS, 2020). Em sistemas de abastecimento de água, é fundamental garantir que a água distribuída à população atenda os padrões de potabilidade e segurança microbiológica, sendo necessária a remoção e inativação de patógenos. Entretanto, um dos desafios existentes no tratamento convencional é a efetividade limitada na remoção de compostos orgânicos e a restrição no uso de agentes oxidantes (FERREIRA FILHO, 2017). Nesse cenário, a biorremediação tem surgido como uma alternativa econômica, segura e ecoeficiente. Esta técnica utiliza plantas com compostos bioativos para a descontaminação de áreas poluídas (PERALTA, 2022). Este estudo propôs a produção de um criogel com propriedades físico-químicas notáveis, como baixa densidade, elevada porosidade e alta retenção de água, promovendo uma abordagem sustentável (DRUEL, 2017). Além disso, o óleo essencial de *Rosa centifolia* (OERC), pertencente à família *Rosaceae*, conhecido por suas propriedades antimicrobianas, especialmente antivirais (GAUNIYAL, 2015), tem sido estudado por sua atuação como bioissorvente na remoção de ferro e manganês de águas subterrâneas, conforme reportado na literatura (KADIR, 2012). Assim, este estudo objetivou avaliar a eficácia de um método alternativo para o tratamento de águas residuais contaminadas pelo vírus SARS-CoV-2, utilizando criogéis impregnados com OERC como filtro para analisar a eficácia dessa remoção.

2. METODOLOGIA

2.1 Remoção das partículas virais

Para o estudo, foram utilizados um criogel à base de amido de milho com OERC (20% m/v) (C-OERC) e um controle (C-CTRL) isento de OERC. A caracterização mecânica e físico-química dos criogéis foi realizada em um estudo

paralelo, assim como o processo de reticulação física e incorporação do composto bioativo.

Para o processo de filtração, cada criogel (3,7 g, 2,3 cm de diâmetro e 0,8 cm de altura) foi colocado na base de um filtro de polietileno tereftalato (PET). Sobre o criogel, foram adicionadas uma camada de areia (103,80 g) e uma pequena camada de carvão ativado (48 g) acima. Inicialmente, preparou-se a água contaminada com o vírus SARS-CoV-2 numa concentração de carga viral em log $2,45 \times 10^5$ (cópias/mL). O vírus se encontra em sua forma inativada no experimento, garantindo segurança na redução do risco de contaminação no ambiente, além de fornecer integridade ao material genético para a análise.

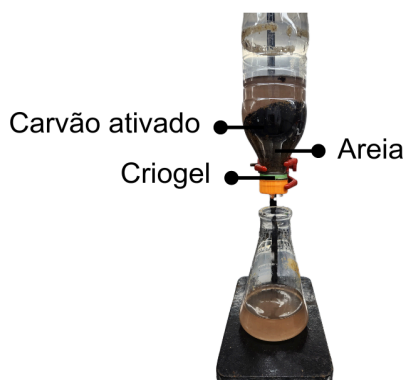


Figura 1. Ilustração do processo de filtração utilizado no estudo.

2.2 Reação em cadeia da polimerase quantitativa em transcriptase reversa (RT-qPCR).

Neste método, denominado como padrão ouro dentro das análises clínicas e ambientais devido a sua sensibilidade, rapidez e especificidade, viabiliza-se a detecção de uma quantidade mínima de ácidos nucleicos virais. A avaliação em RT-qPCR foi utilizada para amplificar a expressão gênica de algumas proteínas do vírus SARS-Cov-2 na água residual após o processo de filtração, além da carga viral retida no biomaterial.

No master mix concentrado 1x, utilizou-se os seguintes componentes: 5 µL da amostra de RNA do vírus SARS-CoV-2, 25 µL de tampão de reação 2x, 1 µL de Superscript™ III One-Step com Platinum™ Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 0,4 mM para cada dNTP, 0,4 µL de uma solução de MgSO₄ 50 mM (Invitrogen), 1 µg de albumina bovina não acetilada (Roche), 10 µM para cada primer e sonda, Primer 2019-nCoV N1 (5'-GACCCCAAATCAGCGAAAT3'), Primer 2019-nCoV N2 (5'-TCTGGTTACTGCCAGTTGAATCTG3'), Sonda 2019-nCoV N1 (5'-FAM ACCCCGCATTACGTTTGGTGGACC- BBQ 3') e água DEPC, resultando num volume final de 25 µL. Os primers e sondas empregados nas reações de PCR foram projetados segundo as sequências publicadas pelos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC).

Para esta reação, utilizou-se um ciclo de 55 °C por 10 min para transcrição reversa, seguido de 95 °C por 3 min, 40 ciclos a 95 °C por 15s e 58 °C por 30s em RT-qPCR (7500 Real-Time PCR System, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de RT-qPCR, o valor do ciclo limiar (Ct) corresponde ao número de ciclos de amplificação necessários para que a concentração do gene ultrapasse o nível de detecção. De acordo com a Tabela 1, verificou-se a presença de SARS-CoV-2 no controle positivo, enquanto no controle negativo, tratado com água DEPC, não apresentou detecção de RNA viral. Na literatura científica, relata-se técnicas efetivas na redução da carga viral em água residual. Dentre elas, o uso da ozonização, que pode gerar instabilidade e possui solubilidade limitada em água. Assim como, a técnica com dióxido de cloro que pode causar neurotoxicidade (CHEN, 2021). Na metodologia abordada neste estudo, a quantidade da expressão gênica do vírus na água após o procedimento de tratamento com o C-OERC constou $\log 6,10 \times 10^1$ em Ct $36,53 \pm 0,79$ comparado ao valor $\log 2,45 \times 10^5$ em Ct $25,59 \pm 0,9$ inicial. Após a passagem pelo C-CTRL constou-se \log de $1,92 \times 10^3$, demonstrando maior capacidade do C-OERC em diminuir as partículas virais da água. Os valores da carga viral retida nos biomateriais C-CTRL e C-OERC, estabelecidos em $\log 7,65 \times 10^3$ e $\log 4,07 \times 10^2$, respectivamente, demonstraram relevante capacidade de filtração para SARS-CoV-2 também no criogel isento de OERC, evidenciando o potencial fitorremediador do amido de milho.

Tabela 1. Quantificação da carga viral (cópias/mL) de SARS-CoV-2 em cinco amostras após filtração de águas residuais. Os resultados são expressos em média dos valores de Cts e carga viral logarítmica, biomateriais, controle positivo e controle negativo.

Amostra	Cts	Carga viral (cópias/mL)
SARS-Cov-2 + Água (CP)	$25,59 \pm 0,9$	$\log 2,45 \times 10^5$
Água DEPC (CN)	Não detectado	Não detectado
Água após filtro C-CTRL	$32,13 \pm 0,17$	$\log 1,92 \times 10^3$
Água após filtro C-OERC	$36,53 \pm 0,79$	$\log 6,10 \times 10^1$
C-CTRL retido	$30,72 \pm 0,39$	$\log 7,65 \times 10^3$
C-OERC retido	$33,52 \pm 0,28$	$\log 4,07 \times 10^2$

4. CONCLUSÃO

O estudo destacou a efetividade na remoção das partículas virais em águas residuais do C-OERC após análise em RT-qPCR, reforçando a melhoria na adição do OERC no biomaterial, garantindo novas aplicações terapêuticas para esse óleo vegetal. Assim, essa abordagem inovadora se mostra promissora para o tratamento de águas contaminadas, contribuindo para estratégias de mitigação do vírus SARS-CoV-2 e para potenciais ameaças relacionadas a microrganismos patogênicos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHEN, L., DENG, Y., DONG, S., WANG, H., LI, P., ZHANG, H., & CHU, W. (2021). **The occurrence and control of waterborne viruses in drinking water treatment: A review.** Chemosphere, 281, 130728.

DRUEL, L.; BARDL, R; VORWERG, W.; BUDTOVA, T. **Starch Aerogels: A Member of the Family of Thermal Superinsulating Materials.** Biomacromolecules. v.18, Issue 12, 11 dez, 2017.

FERREIRA FILHO, S. S. F. **Tratamento De Água: Concepção, Projeto e Operação de Estações de Tratamento.** Rio de Janeiro, 2017. Disponível: <<https://tratamentodeagua.com.br/wp-content/uploads/2018/08/Livro-Sidney-Seckler.pdf>>.

GAUNIYAL, P.; UDAIVIR, D.; TEOTIA, S. **Antimicrobial Activity of Sixteen Medicinal Plants against Oral Flora and its Efficacy Comparison with 2% Chlorhexidine.** J. of Multidisciplinary and Scientific Emerging Research, v. 4, n. 2, 2015.

KADIR, A. A.; OTHMAN, B. N.; M.AZMI, N. **View of Potential of Using Rosa Centifolia to Remove Iron and Manganese in Groundwater Treatment.** International Journal of Sustainable Construction Engineering & Technology , v.3, Issue 2, 2012.

PERALTA, R. **Biodegradação e Biorremediação** (ênfase em bactérias e fungos) Canoas, 2022. Disponível em: <<https://meridapublishers.com/bio/bio.pdf>>.

Sintomas. Ministério da saúde. 08 abril. 2021. Disponível: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/covid-19/sintomas>>.

UZUNIAN, A. Coronavirus SARS-CoV-2 and Covid-19. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 56, 2020.

WEISS, A.; JELLINGSØ, M.; SOMMER, M. O. A. **Spatial and temporal dynamics of SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis.** EBioMedicine, v. 58, p. 102916, ago. 2020.