

OTR.33 - Avaliação do método de floculação para recuperação viral de lixiviado de aterro sanitário

Natália Maria Lanzarini^{1*}; Camille Ferreira Mannarino¹; Jaime Lopes da Mota Oliveira¹; Daniele Maia Bila²; Josino Costa Moreira¹; Marize Pereira Miagostovich³.

¹Fiocruz/ENSP;

²UERJ - Universidade Estadual do Rio de Janeiro;

³Fiocruz/IOC.

Introdução:

O lixiviado de aterro de resíduos sólidos é um líquido escuro, de composição altamente variável, com características recalcitrantes que dificultam o tratamento biológico convencional e podem ser uma importante fonte de contaminação de águas subterrâneas e superficiais.

Objetivo:

Este estudo tem como objetivo avaliar o método da concentração viral com base na floculação por leite desnatado associada a diferentes métodos de extração de DNA/RNA para recuperação viral dessa matriz. Portanto, o adenovírus humano (HAdV), um indicador comum da contaminação fecal humana e o bacteriófago PP7, um controle interno, foram utilizados para avaliar a eficiência da recuperação viral.

Metodologia:

O lixiviado de um aterro sanitário localizado no Estado do Rio de Janeiro foi coletado em junho de 2017 e caracterizado por parâmetros físico-químicos como pH, cor, turbidez, alcalinidade, condutividade, cloreto, DQO, DQO, sólidos, amônia e fosfato. O método de floculação por leite desnatado foi realizado de acordo com o protocolo anteriormente descrito para amostras de esgoto. As inoculações foram realizadas inoculando-se 100 µL de HAdV (10^7 cg/mL) e 100 µL de PP7 (10^8 cg/mL). O controle negativo também foi processado. O DNA/RNA viral foi extraído utilizando-se cinco abordagens diferentes: (1) extração manual por tiocianato de guanidina/sílica; (2) *QIAamp viral RNA mini kit*[®] (Qiagen, EUA); (3) *QIACube* usando *QIAamp QIACube mini kit*[®] (Qiagen, EUA); (4) *QIAamp DNA Stool mini kit*[®] (Qiagen, EUA) e (5) extração de DNA

por *TRIZol* (Invitrogen[®], EUA). O cDNA foi sintetizado utilizando-se o *High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) para detecção de PP7. O qPCR foi realizado pelo sistema *TaqMan*[®] (ABI PRISM 7500, Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), utilizando-se *primers* e sondas específicas para HAdV e PP7 com a curva padrão.

Resultado:

A taxa de recuperação de PP7 foi obtida com sucesso para todos os métodos de extração, com exceção do *TRIZol*, com eficiência variando de 2,5% a 91,33%. Apenas dois métodos foram capazes de extrair o DNA de HAdV, com uma eficiência variando de 0,26% a 1,14%, na extração automatizada com o kit *QIACube* e no *DNA Stool mini kit*[®], respectivamente.

Conclusão:

Os resultados preliminares mostram que a extração com o *QIACube* e o *QIAamp DNA Stool mini kit* foram as melhores abordagens para recuperação de HAdV e PP7, embora mais experimentos serão realizados para validar esses protocolos. Apoio Financeiro: ENSP / FIOCRUZ. Este trabalho de pesquisa está dentro do escopo das atividades da FIOCRUZ como centro colaborador da Saúde Pública e Ambiental da OPAS / OMS.

Palavras-chave: virologia ambiental; lixiviado; aterro sanitário