



Instituto Federal Catarinense

Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal

Campus Concórdia

Leonardo Jaques Sampietro

MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

Concórdia

2024

MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

Dissertação de Conclusão de Curso submetida ao Programa de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense – *Campus Concórdia* para a obtenção do título de Mestre em Produção e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Diogenes Dezen, Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Professor do Instituto Federal Catarinense, campus de Concórdia.

Coorientadora: Prof.^a Teane Milagre Augusto Gomes, Doutora em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais, professora do Instituto Federal Catarinense, campus de Concórdia.

Concórdia

2024

Leonardo Jaques Sampietro

MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

Esta Dissertação de Conclusão de Curso, foi julgada adequada para a obtenção do título de Mestre Produção e Sanidade Animal, e aprovada em sua forma final pelo curso de Mestrado em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense – *Campus Concórdia*.

Orientador: Prof. Dr. Diogenes Dezen, Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia.
Coorientador: Prof.^a Dra. Teane Milagre Augusto Gomes, Instituto Federal Catarinense - Campus Concórdia.

autenticação eletrônica na folha de assinaturas

Prof. Dr. Diogenes Dezen

Instituto Federal Catarinense – *Campus Concórdia*

BANCA EXAMINADORA

autenticação eletrônica na folha de assinaturas

Prof.^a Dra. Teane Milagres Augusto Gomes

Instituto Federal Catarinense, *Campus Concórdia*

autenticação eletrônica na folha de assinaturas

Prof. Dr. Paulo Augusto Esteves

EMBRAPA

Concórdia

2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática do ICMC/USP, cedido ao IFC e
adaptado pela CTI - Araquari e pelas bibliotecas do Campus de Araquari e Concórdia.

S192m Sampietro, Leonardo Jaques
MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA
REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL
/ Leonardo Jaques Sampietro; orientador Diogenes
Dezen; coorientadora Teane Milagre Augusto Gomes. --
Concórdia, 2024.
42 p.

Dissertação (mestrado) - Instituto Federal
Catarinense, campus Concórdia, , Concórdia, 2024.

Inclui referências.

1. Dissertação - Instituto Federal Catarinense,
campus Concórdia - Mestrado Profissional em Produção e
Sanidade Animal, Concórdia, 2024.. 2. Spilki, Fernando
Rosado. 3. Zanella, Janice Reis Ciacci. 4. Spilki,
Fernando Rosado. 5. Brasil, morcegos, vírus. I.
Dezen, Diogenes , II. Gomes, Teane Milagre Augusto .
III. Instituto Federal Catarinense. . IV. Título.

Leonardo Jaques Sampietro

MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense.

Data da Defesa: 03/08/2024

Banca examinadora:

Prof. Dr. Diogenes Dezen (Orientador)

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Instituição de vínculo: Instituto Federal Catarinense – *Campus* Concórdia

Prof. Dr. Teane Milagres Augusto Gomes

Doutor em Ciência Animal pela Universidade Federal de Minas Gerais

Instituição de vínculo – Instituto Federal Catarinense, *Campus* Concórdia

Prof. Dr. Paulo Augusto Esteves

Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do

Instituição de vínculo – EMBRAPA Suínos e Aves



DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI Nº 3/2024 - PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)

(Nº do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 12/03/2025 14:42)

DIOGENES DEZEN
COORDENADOR GERAL - TITULAR
CGARE/REIT (11.01.18.00.26)
Matricula: ###560#6

(Assinado digitalmente em 12/03/2025 14:09)

IVAN BIANCHI
COORDENADOR DE CURSO - TITULAR
PGPSA/ARAQ (11.01.02.22)
Matricula: ###489#1

Visualize o documento original em <https://sig.ifc.edu.br/documentos/> informando seu número: 3, ano: 2024, tipo: **DOCUMENTOS COMPROBATÓRIOS - CAMPUS ARAQUARI**, data de emissão: 12/03/2025 e o código de verificação: **61bc2ce9b3**

Agradecimentos

A todos que contribuíram com o trabalho.

Especial agradecimento ao corpo docente do curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense.

À colega Tainá Cristina Dedonatti dos Santos, pelo auxílio com o protocolo anestésico.

À Dra. Janice R. C. Zanella, pela colaboração intelectual e material.

Ao Dr. Fernando Rosado Spilki, por tornar possível chegarmos nos resultados.

Ao professor Dr. Diogenes Dezen, pela disponibilidade e colaboração em inúmeras ocasiões.

À minha família, pelo incentivo.

Resumo

SAMPIETRO, Leonardo Jaques. **Monitoria da ocorrência de vírus em morcegos na região meio oeste do estado de Santa Catarina, Brasil**. 2024. 42f. Dissertação (Mestrado em Produção e Sanidade Animal) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2024.

Morcegos são reconhecidos como reservatórios para inúmeros vírus, alguns dos quais com potencial pandêmico. O estudo buscou identificar a presença de agentes virais em morcegos capturados em abrigos naturais e artificiais. Entre setembro de 2022 e setembro de 2023, foram coletadas amostras de conteúdo oral e retal de 31 animais capturados em nove municípios do meio oeste de Santa Catarina. A extração do RNA foi realizada utilizando kit comercial QIAmp Viral RNA Mini kit, através de reações em cadeia da polimerase (PCR). Para a detecção de coronavírus (CoV) foram amplificadas regiões do gene da RNA polimerase dependente (RdRp). Os DNAs complementares (cDNAs) foram sintetizados utilizando kit comercial High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Thermo Fisher Scientific). As reações em cadeia da polimerase (PCRs) foram realizadas utilizando protocolos descritos em literatura. Protocolos com Hemi-nested PCR (hn-PCR) foram utilizados para a detecção de hendra, respirovírus, morbilivírus, com ampliação de regiões do gene RdRp. Para detecção de lissavírus, utilizou-se protocolo que amplifica um fragmento gene N. Da mesma forma um protocolo hn-PCR foi empregado para a detecção do vírus da raiva (RABV). Protocolo para rotavírus (RV) que amplifica fragmentos da proteína viral (VP6). Para vírus da influenza A a detecção foi realizada visando o gene PB1 e o gene da matrix (gene M). Para as detecções visando o gene M, foi empregada a técnica de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa em tempo real (RT-qPCR). Um protocolo nested-PCR para a detecção de Adenovírus foi utilizado com amplificação da sequência parcial do gene DNA polimerase. O sequenciamento genético foi realizado utilizando a plataforma NextSeq. Dentre os exemplares das famílias *Phyllostomidae* e *Molossidae* capturados, em uma amostra de suabe retal colhida no município de Arabutã, em animal da espécie *Molossus molossus*, identificou-se a presença de Coronavírus MERS-like, e uma amostra coletada no município de Irani, da espécie *Desmodus rotundus* apresentou resultado positivo para adenovírus. Conclui-se que há circulação de coronavírus e adenovírus em população de morcegos na região meio oeste do estado. Dessa forma, o estudo contribui para esclarecer o papel desses animais na disseminação de agentes patogênicos, além de ter relevante contribuição para outros estudos que buscam compreender o comportamento de agentes virais nessa população animal.

Palavras-chave:

coronavírus; morcego; MERS; adenovírus; sequenciamento genético; suabe oral, suabe retal

Abstract

SAMPIETRO, Leonardo Jaques. **Monitoring the occurrence of viruses in bats in the mid-west region of Santa Catarina state, Brazil**. 2024. 42f. Dissertação (Mestrado em Produção e Sanidade Animal) - Curso de Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal, Pró-reitora de Pesquisa, Pós-Graduação e Inovação, Instituto Federal Catarinense, Concórdia, 2024.

Bats are recognized as reservoirs for numerous viruses, some of which have pandemic potential. The study aims to identify the presence of viral agents in bats captured in natural and artificial shelters. Between September 2022 and September 2023, oral and rectal content samples were collected from 31 bats captured in nine municipalities in the Midwest of Santa Catarina. RNA extraction was carried out using the commercial QIAmp Viral RNA Mini kit, using polymerase chain reactions (PCR). For the detection of coronavirus (CoV), regions of the dependent RNA polymerase gene (RdRp) were amplified. Complementary DNAs (cDNAs) were synthesized using a commercial High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Thermo Fisher Scientific). Polymerase chain reactions (PCRs) were performed using protocols described in the literature. Protocols with Hemi-nested PCR (hn-PCR) were used for the detection of hendra, respiroviruses, morbilliviruses, with amplification of regions of the RdRp gene. To detect lyssaviruses, a protocol was used that amplifies an N gene fragment. Likewise, an hn-PCR protocol was used to detect the rabies virus (RABV). Protocol for rotavirus (RV) that amplifies fragments of the viral protein (VP6). For influenza A viruses, detection was carried out targeting the PB1 gene and the matrix gene (M gene). For detections targeting the M gene, the real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR) technique was used. A nested-PCR protocol for the detection of Adenovirus was used with amplification of the partial sequence of the DNA polymerase gene. Genetic sequencing was performed using the NextSeq platform. Among the specimens of the Phyllostomidae and Molossidae families captured, in a rectal swab sample collected in the municipality of Arabutã, from a bat of the species *Molossus molossus*, the presence of MERS-like Coronavirus was identified, and a sample collected in the municipality of Irani, from species *Desmodus rotundus* tested positive for adenovirus. It is concluded that there is viral circulation in bats captured in the mid-west region of the state. In this way, the study contributes to clarifying the role of these animals in the dissemination of pathogenic agents, in addition to making a relevant contribution to other studies that seek to understand the behavior of viral agents in this animal population.

Keywords: coronavirus; bat; MERS; adenovirus; genetic sequencing; swab oral, swab rectal

SUMÁRIO

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE	11
1.1 Morcegos e a replicação viral.....	12
1.2 Morcegos e agentes virais.....	12
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA	17
3.1 Introdução	17
3.2 Material e Métodos.....	18
3.2.1 Captura, coleta das amostras e extração de RNA.....	18
3.2.2 Diagnóstico inicial de vírus.....	19
3.2.3 Sequenciamento e análise filogenética.....	21
3.3 Resultados.....	21
3.4 Discussão.....	23
3.5 Conclusão.....	25
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	25
5 REFERÊNCIAS	25
6 ANEXOS	32
ANEXO 1 - Parecer do comitê de ética - Instituto Federal Catarinense.....	32
ANEXO 2 - Autorização SISBIO.....	33
ANEXO 3 - Amostras sequenciadas no estudo.....	39
ANEXO 4 - Coleta e captura dos quirópteros.....	40

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA E ESTADO DA ARTE

O conceito mundial de saúde única - "One Health" descreve a importância de considerar o equilíbrio entre meio ambiente, animais e humanos como a forma mais eficaz para prevenir e mitigar a ocorrência de doenças (BONI *et al.*, 2020). Eventos que promovam alterações socioeconômicas e ambientais em um ecossistema, são capazes de aproximar os seres humanos dos agentes zoonóticos emergentes (BERGNER *et al.*, 2021).

Os morcegos representam o segundo grupo de mamíferos mais abundante depois dos roedores, constituindo cerca de 20% de todas as espécies de mamíferos. Com mais de 1.300 espécies conhecidas, alguns deles podem viver até 40 anos. São os únicos mamíferos capazes de voar, o que contribui para a disseminação da sua população. Pertencem a uma ordem muito diversificada e geograficamente difundida (Chiroptera), representando mais de 20% de todas as espécies de mamíferos. Devido à sua capacidade de voo e ampla gama de hábitos alimentares como por exemplo, frugívoro, nectarívoro, insetívoro, carnívoro, sanguívoro), fornecem serviços ecossistêmicos importantes que incluem dispersão de sementes, polinização e predação de insetos (NEELY *et al.*, 2021).

Os morcegos são considerados importantes reservatórios de patógenos devido à alta diversidade e características ecológicas, que facilitam a manutenção e a transmissão dos vírus (AHN M. *et al.*, 2019). Seu sistema imunológico peculiar permite que abriguem uma variedade de vírus. Isso se deve à capacidade dos morcegos de controlar a inflamação, uma vez que, ao contrário de outros animais, os morcegos não reagem à infecção com a resposta inflamatória usual que muitas vezes leva a danos no organismo (AHN *et al.*, 2013). Possuem alta longevidade em relação ao seu tamanho, baixas taxas tumorigênicas, alto metabolismo e interação social, que lhe conferem a capacidade de hospedar agentes patogênicos variados. Entre as características específicas desses animais, está sua capacidade de resposta inflamatória frente a agentes patogênicos (LIU Z. *et al.*, 2024).

A inflamação, que é mediada principalmente pelas proteínas NLR's, é consideravelmente reduzida nos morcegos em comparação aos camundongos e humanos. Isso ocorre devido a adaptações específicas nos morcegos, como a redução do *priming transcripcional*, uma etapa crucial no processo de produção do inflamossoma. O NLRP3 (um receptor da família NOD-like contendo domínio pirina 3), e a presença de variantes do NLRP3 tornam as proteínas menos ativas nos morcegos do que em outras espécies. Portanto, em vez de possuírem uma resposta inflamatória mais eficaz contra infecções, os morcegos apresentam uma tolerância muito maior (ALVES *et al.*, 2021). Essa modulação da resposta inflamatória permite que sobrevivam e se tornem excelentes reservatórios virais.

Os inflamossomas são proteínas que possuem papel central na resposta inflamatória. São ativados por meio da agregação de diferentes proteínas citoplasmáticas, como a proteína relacionada a apoptose. Estes agregados, que recebem o nome de specks (ASC), promovem a ativação da

enzima caspase-1 que, por sua vez leva à produção da citocina interleucina-1 beta (IL-1), um importante componente da inflamação. AHN M. et al., 2023, identificou altos níveis de ASC2 nas células imunes de morcegos de diferentes espécies, bem como a sua alta capacidade como moduladores negativos de resposta inflamatória.

1.1 MORCEGOS E A REPLICAÇÃO VIRAL

O processo de infecção viral tem início com a ligação das partículas virais aos receptores presentes na superfície das células. Portanto, o reconhecimento desses receptores é um fator determinante no tropismo viral, ou seja, na preferência por determinadas células e tecidos (AZHAR, E. I. et al., 2014). A proteína spike do coronavírus (S) é o principal determinante do tropismo viral e é responsável pela ligação do receptor e fusão da membrana (POLTRONIERI, P. et al., 2015).

Com o aumento dos relatos de casos de COVID-19 associados ao Mercado Huanan, surgiu a suspeita de que uma fonte animal estivesse presente nesse local. Em estudo retroativo comparando material SARS-CoV (2002 e 2003) colhidos de diferentes hospedeiros e, e amostras colhidas durante o surto de coronavírus em Wuhan, até então identificado como 2019n-CoV, descreve que ambos utilizam ACE2 como receptores de entrada nos hospedeiros, e apresentam mesmo domínio de ligação ao receptor (RBD) (WANG, Y. Et al., 2020).

Após o surgimento da COVID-19, pesquisadores chineses identificaram que o SARS-CoV-2 também depende dos receptores da ACE2 para penetrar nas células. A função principal da ACE2 é facilitar a conversão da angiotensina, responsável por regular a contração dos vasos sanguíneos e a pressão arterial. Os receptores da ACE2 são proteínas de membrana tipo I, e estão presentes no pulmão, coração, rim e intestino (WANG, L. Et al., 2014). O SARS-CoV-2 pode entrar na célula hospedeira por meio de endossomos ou por fusão com a membrana celular. Em ambos os casos, a proteína S do vírus é responsável por se ligar à membrana da célula hospedeira por meio dos receptores ACE2. No primeiro cenário, quando os vírus são endocitados, a catipsina L ativa a proteína S dentro desses compartimentos; enquanto na fusão com a membrana, a proteína S é ativada por proteases celulares próximas ao receptor ACE2. A entrada por fusão com a membrana celular tem menos probabilidade de desencadear uma resposta imunológica antiviral por parte das células hospedeiras, desta forma, tornando-a mais eficaz para a replicação viral (PIROLI, D. et al., 2021).

Foi demonstrado a evolução do número de CoVs e o aumento de locais de clivagem da furina nos últimos 60 anos, fatores que contribuem para acelerar a ocorrência de mutações virais e para o aumento da capacidade de fusão viral nas células hospedeiras (LIU, X. *et al.*, 2021).

1.2 MORCEGOS E AGENTES VIRAIS

Os morcegos carregam mais vírus zoonóticos do que a maioria das outras ordens de mamíferos e são os hospedeiros reservatórios confirmados para o vírus Hendra, vírus Nipah, vírus Marburg, uma série de lissavírus (por exemplo, vírus da raiva) e coronavírus do tipo SARS (WILKINSON, G. S. et al., 2002).

Históricamente, o gênero *lissavirus* é mais comumente atrelado a morcegos por ser o causador da raiva. Pertence a família *Rhabdoviridae*, e causam encefalites fatais em quase todos os continentes (WARREL, M. J. et al., 2004). Seu genoma apresenta comprimento variado, é composto por fita simples de RNA, sentido negativo, que codifica cinco proteínas virais: a proteína do nucleocapsídeo (N), a fosfoproteína (P), a proteína da matriz (M), a glicoproteína (G) e a proteína RNA polimerase dependente de RNA (L) (BANYARD, A. C. et al., 2018). O gênero *lissavirus* compreende em 15 filogrupos distintos, cada um com características específicas quanto a espécies preferenciais de vetores envolvidas e localização geográfica. DEUBELBEISS, A., 2014 relata a crescente variação dentro do gênero *lissavirus* encontrado na natureza, e descreve testes moleculares como alternativa complementar confiáveis e rápidas para o diagnóstico da raiva e outros vírus pertencentes ao mesmo gênero.

O gênero *Reoviridae* também tem origem zoonótica, principalmente envolvendo morcegos. Os reovírus apresentam distribuição mundial, e são isolados em várias espécies animais (DESPRÉS, G. D. et al., 2023). Os rotavírus (Rvs) são considerados zoonóticos e estão comumente associados a doenças entéricas em aves e mamíferos, incluindo humanos (LIU, Z. et al., 2024). Os Rvs possuem RNA fita dupla, não envelopado e genoma de 11 segmentos. A sequência de aminoácidos VP6 determina a espécie a que pertence (VPs A-D e Vps F-J) (TIAN, J., et al. 2022).

A família *Paramyxoviridae* contém grande número de vírus com uma gama de hospedeiros variada. Sua principal via de transmissão é a respiratória. São classificados em quatro gêneros: *Morbillivirus*, *Rubulavirus*, *Respirovirus* e *Henipavirus*, cada um contendo vírus isolados em humanos e animais (THIBAULT, P. A. et al., 2017). São vírus envelopados, de fita negativa, não segmentado, com seis quadros de leitura abertos (ORFs), que codificam os genes estruturais: nucleocapsídeo (N), polimerase (L), fosfoproteína (P), matriz (M), fusão (F) e fixação (G, H, HN) (RIMA, B. et al., 2019).

Os vírus pertencentes a família *Orthomyxoviridae* apresentam genoma de RNA fita-simples, segmentado e de sentido negativo. Os gêneros englobados nesta família demonstram diferenças quanto a gama de hospedeiros e patogenicidade, sugerindo que tenham divergido evolutivamente com o passar do tempo (TAUBENBERGER, J.K. et al., 2010). MEHLE, A., 2014 identificou duas novas linhagens vírus da Influenza A em morcegos da família *Phyllostomidae*, *Sturnira lilium*, na Guatemala e *Artibeus jamaicensis planiristris*, no Peru. Até a identificação dos vírus em morcegos, 16 hemaglutininas (HA) e 9 neuraminidases (NA) foram identificadas, circulando principalmente em reservatórios aviários.

O coronavírus (*Coronaviridae: Orthocoronavirinae*), desde 2002, quando associado a síndrome respiratória aguda grave (SARS), e em 2012, associado à Síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), tornou-se uma ameaça pandêmica em potencial. Os coronavírus foram inicialmente identificados em 1966, enquanto estudavam amostras virais de pacientes com resfriados comuns (TYRRELL et al., 1966). Pertencem a uma categoria de vírus de grande porte e com envoltório, caracterizados por sua forma esférica, variando de 100 a 160 nm de diâmetro. Sob o microscópio eletrônico, são observados como círculos adornados com espículas projetando-se de sua superfície, dando-lhes uma aparência semelhante a uma coroa solar ("corona" em latim significa coroa), (LI, F., 2015). Podem ser encontrados quatro gêneros: *Alphacoronavirus* (α -CoV), *Betacoronavirus* (β -CoV), *Deltacoronavirus* (Δ -CoV) e *Gammacoronavirus* (γ -CoV). Os vírus Delta e Gama tendem a infectar principalmente aves, enquanto os gêneros Alfa e Beta abrangem patógenos animais e humanos (COHEN et al., 2023).

São vírus envelopados, sendo o genoma composto por uma fita de RNA contínua de polaridade positiva, com variação de 27 e 32.000 nucleotídeos. A identificação do coronavírus pode ocorrer através de amostras cutâneas, orais e fezes submetidas à análise de material genético utilizando técnicas moleculares (BERNER, L. M. et al., 2021). Em 2013, estudando morcegos das espécies *Molossus molossus* e *Tadarida brasiliensis* em abrigo artificial em área urbana, foi realizada a primeira de detecção de CoV em fezes de morcegos insetívoros presumivelmente saudáveis no Brasil. (LIMA, F.E.S. et al., 2013). O genoma dos coronavírus contém uma única fita de RNA com polaridade positiva e varia em tamanho de 26 kb a 32 kb. Esses vírus possuem quatro proteínas estruturais fundamentais denominadas proteínas S (spike), E (envelope), M (membrana) e N (nucleocápsideo) (LIMA et al., 2020).

Embora o genoma de uma cepa de SARS-CoV derivada de um morcego da espécie *Rhinolophus affinis* (RaTG13) seja 96% idêntico ao genoma do SARS-CoV-2, sua proteína S apresenta diferenças no domínio de ligação ao receptor (RBD), o que sugere que ela não se liga eficientemente aos receptores da enzima conversora de angiotensinogênio (ACE2) de humanos, indicando a possível presença de um hospedeiro ainda não identificado (JAIMES, J.A. et al., 2020).

Assim como no surgimento do MERS-CoV, em 2012, que infectou 2.500 pessoas na península arábica, após ser transmitido de camelos para humano (DUDAS et al., 2018), quanto no surto do EBOLA (variante Makona), ocorrido no oeste da África no ano de 2014, no qual foram afetadas 28.646 pessoas, com 11.323 mortes (HOLMES et al., 2016), e em 2002, no surgimento do SARS-CoV, na China, acredita-se que os morcegos tenham sido os reservatórios primários para esses vírus (LI W. et al., 2005).

No início de 2020, um novo coronavírus, o SARS-CoV-2, foi identificado como o agente causador de um surto de pneumonia em Wuhan, China, que eventualmente se transformou em uma pandemia global. Uma combinação de sequenciamento retrospectivo do genoma e amostragem contínua identificou então coronavírus relacionados ao SARS-CoV-2 na vida selvagem. Estes incluíam o vírus do morcego *Rhinolophus affinis* – RaTG13 (RAMOS, A. et al., 2021).

Em estudo realizado em 2020, envolvendo a análise de quatro morcegos da espécie *R. cornutus* capturados em uma caverna na província de Iwate, Japão, com extração de RNA de suas fezes frescas, os autores utilizaram PCR em tempo real (rRT-PCR) para detectar parcialmente o gene *rdrp* do sarbecovírus em duas amostras, utilizando *primers* específicos para o beta coronavírus. Realizou-se o sequenciamento do RNA e determinou-se a sequência completa do genoma de uma amostra, Rc-o319. Uma análise do genoma completo de Rc-o319 por meio do BLAST mostrou uma alta homologia de nucleotídeos com a cepa SARS-CoV-2 HKG/HKU-904a/2020, com alinhamento de 96% e identidade de sequência de 81,47%. A análise de máxima verossimilhança com sarbecovírus posicionou o genoma completo e o gene da proteína spike (s) de Rc-o319 dentro de um clado que inclui o SARS-CoV-2. As sequências de aminoácidos da ORF1ab e S de Rc-o319 também foram posicionadas dentro desse clado. A ausência de recombinação em Rc-0319 foi suportada pela análise de similaridade entre as árvores filogenéticas de *orf1ab* e *s*. As sequências de nucleotídeos e aminoácidos de Rc-o319 mostraram maior homologia com vírus pertencentes ao clado SARS-CoV-2 do que ao clado SARS-CoV, sugerindo uma relação genética entre Rc-o319 e o SARS-CoV-2 (MURAKAMI, S. et al., 2020).

ZHOU et al. (2021), entre maio de 2019 e novembro de 2020, coletaram diversas amostras biológicas de morcegos em um jardim botânico tropical e áreas vizinhas na província de Yunnan, sul da China. Essas amostras incluíram 283 amostras fecais, 109 suabes orais e 19 amostras de urina, com a maioria proveniente de morcegos-ferradura, como *Rhinolophus malayanus*, *Rhinolophus stheno*, *Rhinolophus sinicus*, *Rhinolophus siamensis*, *Rhinolophus pusillus*, além de outros *Rhinolophus* sp. e *Hipposideros larvatus*. As amostras foram agrupadas em 100 bibliotecas, cada uma contendo de 1 a 11 amostras, e foram submetidas a sequenciamento metatranscriptômico para identificação de coronavírus. Foram identificadas 26 sequências longas de dna para genoma de coronavírus, incluindo 9 sarbecovírus e 17 alfa coronavírus.

Durante um estudo de vigilância de cinco anos (2006 a 2010) sobre coronavírus de morcegos (CoV) no Quênia, TAO E TONG (2019), identificaram 5 beta coronavírus de morcegos *Rinolophus spp*, através da técnica de PAN-CoV-PCR (RT-PCR), em amostras fecais de morcegos *Chaerephon spp* e *Rhinolophus spp*. As amostras de beta coronavírus apresentaram identidade de nucleotídeos superior a 98% entre si e foram agrupados com outros CoVs conhecidos, relacionados ao SARS de morcegos *Rinolophus spp*. na China e na Europa, evidenciando a diversidade e o alcance geográfico dos CoVs em morcegos *Rinolophus*.

DELAUNE et al., (2021), em estudo realizado no Camboja, analisou 430 amostras arquivadas de seis famílias de morcegos e duas famílias de mamíferos carnívoros, incluindo suabes orais e retais. Destas, 3,72% das amostras de suabes retais testaram positivo para coronavírus, com 11 amostras identificadas como alfa coronavírus e cinco como betaCoV. Duas dessas amostras betaCoV testaram positivo para o gene *rdrp* de sarbecovírus, ambas provenientes de suabes retais de morcegos-ferradura coletados em 2010. Análises filogenéticas dessas amostras revelaram uma estreita relação com o SARS-CoV-2, com 92,6% de identidade nucleotídica em todo o genoma. A similaridade genética foi observada em várias regiões do genoma, sugerindo uma linhagem de vírus intimamente relacionada ao SARS-CoV-2.

SCHLOTTAU et al. (2020) inocularam intranasalmente com SARS-CoV-2 nove morcegos frugívoros, furões, suínos e 17 galinhas. Além disso, animais de contato direto foram incluídos para avaliar a transmissão viral após 24 horas da inoculação. Os resultados revelaram que suínos e galinhas não foram suscetíveis ao vírus, enquanto morcegos frugívoros apresentaram infecção transitória, principalmente associada à cavidade nasal. Furões, por sua vez, demonstraram replicação viral eficiente, com transmissão para animais de contato direto. Esses resultados sugerem que os furões podem servir como modelo para estudos adicionais, como testes de vacinas e antivirais, enquanto os morcegos frugívoros exibem características de um potencial reservatório do vírus.

WACHARAPLUESADEE et al. (2021), em uma colônia de cerca de 300 morcegos da espécie *Rhinolophus acuminatus*, detectaram a presença de coronavírus denominado RacCS203, relacionado ao SARS-CoV2 (SC2r-CoV) em 13 dos 100 suabes retais coletados. A sequência e análise do genoma completo de uma das amostras (RacCS203) revelou que o mesmo possui diferenças significativas em relação a amostra RmYN02, indicando ser um novo coronavírus de morcego.

LI et al. (2022), durante um período de 12 anos, coletaram 389 suabes retais de morcegos *R. sinicus*, 177 de *R. affinis* e 11 de *Hipposideros pomona* em cavernas da China. Essas amostras foram submetidas a teste molecular por RT-PCR, resultando em 22 amostras de *R. sinicus*

e em 6 de *R. affinis* positivas para beta coronavírus. O sequenciamento dos amplicons revelou que essas amostras eram coronavírus relacionados ao SARS (SARSr-CoVs). A metagenômica viral revelou a presença de um novo SARSr-CoV em uma das amostras. A análise evolutiva mostrou eventos potenciais de recombinação entre diferentes cepas de SARSr-CoVs, indicando uma alta capacidade de mutação e recombinação desses vírus. Além disso, foi observada a coexistência de *R. sinicus* e *R. affinis* nas mesmas cavernas, aumentando o risco de transmissão entre espécies de SARSr-CoVs. Esses achados destacam a complexidade e a dinâmica da evolução e transmissão desses vírus entre populações de morcegos.

Dessa forma, pode-se verificar que os coronavírus estão em constante evolução genética, e o monitoramento destes vírus em população de quirópteros tem um papel relevante no esclarecimento da epidemiologia e predição de novas doenças que possam surgir. Neste sentido, o estudo a seguir contribui para identificar agentes virais presentes em populações de animais pouco estudadas, descrevendo a detecção de uma cepa de coronavírus isolada em amostras de morcegos que habitam a região do Oeste Catarinense.

2 **OBJETIVOS**

2.1 **Geral**

Detectar a presença de agentes virais, em morcegos capturados na região meio oeste do estado de Santa Catarina.

2.2 **Específicos**

- Verificar a circulação de agentes virais em morcegos através da análise de amostras de suabes retais e orais utilizando técnicas moleculares;
- Classificar os vírus circulantes utilizando técnicas moleculares e sequenciamento genômico.

3 MONITORIA DA OCORRÊNCIA DE VÍRUS EM MORCEGOS NA REGIÃO MEIO OESTE DO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL

SAMPIETRO, L.J.¹, GOMES, T.M.A.², PIRES, P.³; ZANELLA, J.R.C.⁴, SPILKI, F.R.⁵, DEZEN, D.⁶

¹ Pós-Graduação em Produção e Sanidade Animal – IFC- *Campus* Concórdia;

² Pós graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense - *Campus* Concórdia;

³ Pós graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense - *Campus* Concórdia;

⁴ Pesquisadora da Embrapa Suínos e Aves em Virologia Animal e Docente do mestrado profissional em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense – *Campus* Concórdia;

⁵ Pesquisador e Professor Titular da Universidade FEEVALE, Brasil;

⁶ Pós graduação em Produção e Sanidade Animal do Instituto Federal Catarinense - *Campus* Concórdia.

3.1 INTRODUÇÃO

Em 2019, a pandemia causada por um Coronavírus, resultou em mais de 4 milhões de casos da doença, e aproximadamente 290.000 mortes espalhadas por todos os continentes, causando impactos sanitários, econômicos e sociais (NICOLA, M. et al., 2020). Teorias como a seleção natural em um hospedeiro animal antes da transferência zoonótica, e seleção natural em humanos após a transferência zoonótica, apontam os morcegos como animais participantes no surgimento do novo vírus (ANDERSEN, K.G. et al., 2020).

Morcegos pertencem a ordem *Chiroptera*, composto por 202 gêneros e aproximadamente 1120 espécies. Podem ser divididos em duas subordens, os *Megachiroptera* e *Microchiroptera*. A subordem *megachiroptera* não ocorre no Brasil. É composta por uma única família e 150 espécies. A *microchiroptera* ocorrem em praticamente todos os continentes, com exceção das regiões polares. São compostos por 17 famílias e 930 espécies (DOS REIS, N. R. et al., 2007). No Brasil, são conhecidas 186 espécies e 68 gêneros, os quais estão presentes em todos os biomas (<https://sbeq.org.br/lista-espécies>), acessado em 20/12/2024).

Para a coleta de amostras, utilizam-se morcegos capturados em seu ambiente natural, como parte externas de cavernas ou locais onde se abrigam. O material genético é isolado e o RNA viral é analisado. Técnicas de detecção molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) também pode ser utilizada para amplificar o material genético dos vírus, permitindo detecção de sequências genéticas virais específicas (DREXLER et al., 2014). Estudos recentes apontaram uma alta capacidade de mutação e recombinação desses vírus (LI, L. et al., 2022). Os coronavírus, por exemplo, estão em constante evolução genética e o monitoramento destes vírus em população de quirópteros tem um papel relevante no esclarecimento da epidemiologia e predição de novas doenças que possam surgir (JAIMES, J.A. et al., 2020). Neste sentido, o presente estudo descreve a detecção de uma cepa de coronavírus isolada em amostra de morcego capturado na região do Meio Oeste Catarinense, Brasil.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Captura, coleta das amostras e extração de RNA

Neste estudo, foram coletadas amostras biológicas de morcegos capturados em seu ambiente natural. O trabalho foi previamente submetido e aprovado pelo Comitê de ética em uso de animais do IFC campus Concórdia sob o número 07/2021, e Ministério do Meio Ambiente-ICMBio sob o número 82243-1. Entre setembro de 2022 e setembro de 2023, foram capturados 31 morcegos durante monitorias de abrigos naturais, propriedades rurais e abrigos temporários em áreas urbanas. Para as capturas, foram utilizados equipamentos de proteção individual redes de neblina, puçá, luvas de couro. Ao total, 62 amostras de conteúdo oral e retal coletados através de suabes. Os animais foram submetidos a anestesia geral por via parenteral, utilizando protocolo quetamina+acepran+mepredina, aplicada na região ventral, em conformidade com as recomendações do Guia Brasileiro de Boas Práticas para eutanásia em Animais, e Resolução Normativa 37 de 2018, do Ministério da ciência, tecnologia e inovação (MCTI). Dados referentes às capturas, como locais, identificação do material coletado, espécie capturada foram registrados em ficha de coleta específica.

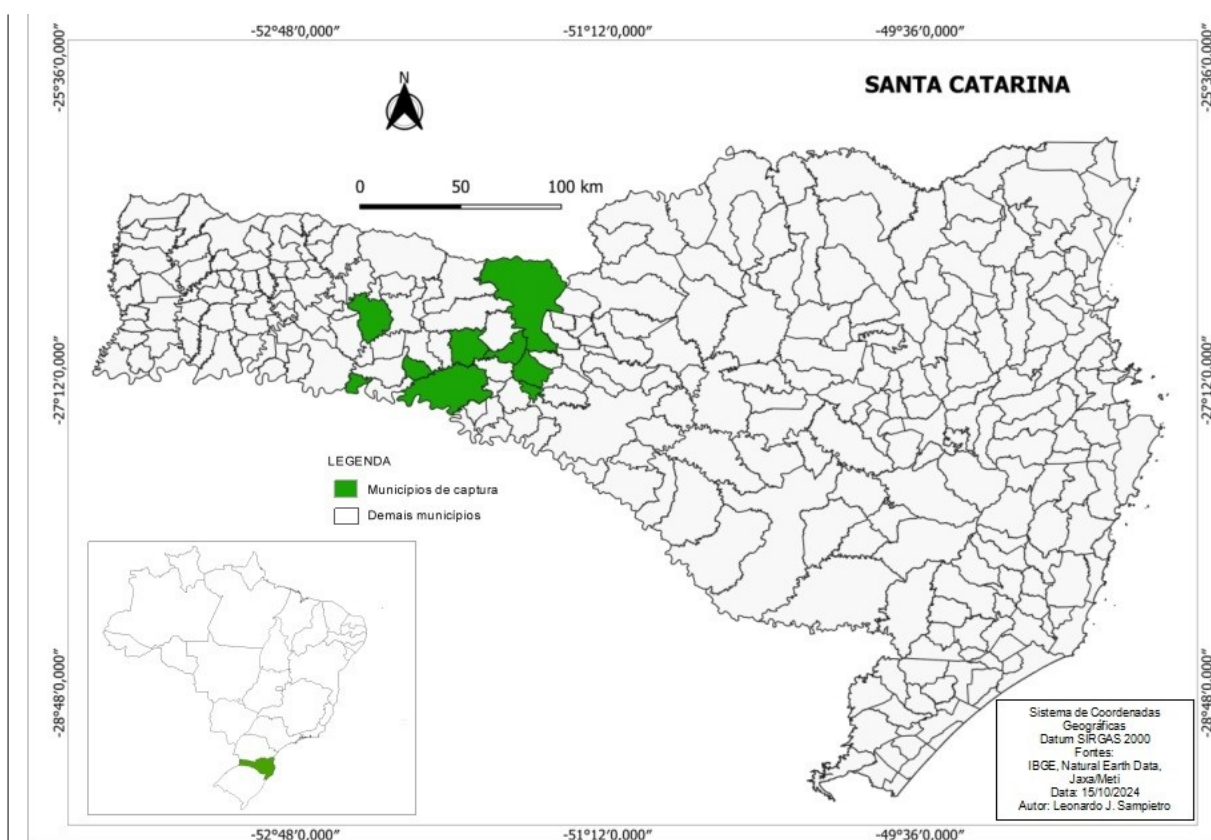


Phyllostomus hastatus (foto: acervo próprio)



Molossus molossus (foto: acervo próprio)

As coletas de saliva e conteúdo retal foram realizadas através da utilização de suabes com meio de armazenamento e estabilização RNALater® (Thermo Fisher, Brasil), na quantidade de 2 ml por tubo. As amostras foram acondicionadas em caixas de isopor com gelo e encaminhadas para o armazenamento, conforme o programa nacional de sanidade aviária (PNSA), “MANUAL DE COLHEITA, ARMAZENAMENTO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS”, do Ministério da Agricultura (MAPA), armazenadas em ultrafreezer (-80°C). A extração de RNA foi realizada com kit de extração para RNA comercial QIAamp Viral RNA Mini Kit® (Qiagen, Alemanha, 2020), de acordo com o protocolo do fabricante.



Municípios onde foram realizadas as capturas. Fonte (autor)

3.2.2 Diagnóstico inicial de vírus

Os cDNAs foram sintetizados utilizando o kit comercial High-Capacity cDNA Reverse Transcription® (Thermo Fisher Scientific). Para as PCRs, foram utilizados protocolos descritos na literatura.

A detecção de coronavírus (CoV) (família *Coronaviridae*) foram amplificadas regiões do gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) (WOO et al., 2006; CHU et al., 2011). Um protocolo com Hemi-nested PCR para detecção de hendra (Gênero *Henipavirus*), respirovírus (Gênero

Respirovirus) e morbilivírus (Gênero *Morbilivirus*), todos pertencentes à família *Paramyxoviridae*, foram amplificadas regiões do geneprdrp (TONG et al., 2008). Para lissavírus (família *Rhabdoviridae*), um protocolo que amplifica um fragmento gene N (WADHWA et al., 2017), da mesma forma um protocolo Hemi-nested PCR foi empregado para a detecção do vírus da raiva (RABV), com amplificação do fragmento gene N (SOARES et al., 2002). Um protocolo para rotavírus (RV) (família *Reoviridae*) que amplifica fragmentos da proteína viral 6 (VP6) (VECCHIA et al., 2012). Para vírus influenza A (família *Orthomyxoviridae*) a detecção foi realizada visando o gene PB1 e o gene da matriz (gene M) (RAMIREZ-PALACIOS et al., 2018; KANDEIL et al., 2019; SPACKMAN, E. et al., 2002). Para as detecções visando o gene da matriz (gene M), foi empregada a técnica de PCR com transcrição reversa quantitativa em tempo real (RT-qPCR). Finalmente, protocolos de *nested*-PCR para detecção de adenovírus (família *Adenoviridae*) com amplificação da sequência parcial do gene DNA polimerase foram utilizados (LI et al., 2010).

Os produtos de amplificação de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2% e visualizados em luz UV. As medidas de controle de qualidade incluíram o uso de controles sem modelo (NTCs) para identificar e prevenir a contaminação, acompanhado de controles positivos em todas as placas para garantir a eficácia do ensaio. A Tabela 1 fornece informações detalhadas sobre sequências e referências de *primers* e sondas.

Tabela 1: *Primers* e sondas usados para a detecção de coronavírus (CoV), parainfluenza (HPIV), raiva (RABV), rotavírus (RV), adenovírus (AdV) e vírus da influenza A (FLUAV).

Vírus alvo	Teste	Primer	Região alvo	Produto (pb)	Sequência (5' → 3')	Referência
<i>Coronaviridae</i>	PCR	COV POL F	RdRp	440 pb	GGTTGGGAC-TATCCTAAGTGTGA	Woo et al., 2006
		COV POL R			CCATCATCAGATAGAATCATCATA	
<i>Coronaviridae</i>	PCR	COV 1F	RdRp	440 pb	GGKTGGGAYTAYCKKAARTG	Chu et al., 2011
		COV 1R			TGYTGSWRCARAAYTCRTG	
		COV 2F			GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA	
		COV 2R			CCATCATCAGATAGAATCATCAT	
<i>Paramyxovirinae</i>	Hemi-nested PCR	PAR-F1	RdRp	510 pb	GAAGGITATTGTCAIAARNTTGGAC	Tong et al., 2008
		PAR-F2			GTTGCTCAATGGTTCARGGNGAYAA	
		PAR-R			GCTGAAGTTACIGGITCICCCDARTTNC	
<i>Paramyxovirinae</i>	Hemi-nested PCR	RES-MOR-HEN-F1	RdRp	500 pb	TCITCTTTAGAACITTYGNCAYCC	Tong et al., 2008
		RES-MOR-HEN-F2			GCCATATTTTGGGAATAATHAAYVGG	
		RES-MOR-HEN-R			CTCATTTTGTAGTATYTTNGCRAA	
<i>Rhabdoviridae</i>	Hemi-nested PCR	PAN LYSSA F	GN	164 pb	ACGCTTAAACAATAACADAGAAG	Wadhwa et al., 2017
		PAN LYSSA R			CMGGGTAYTRTAYTCATAYTGRTC	
<i>Rhabdoviridae</i>	Hemi-nested PCR	RAIVA P510 F	GN	295 pb	ATAGAGCAGATTTTCGAGACAGC	Soares et al., 2002
		RAIVA P942 R1			CCCATATAACATCCAACAAGTG	
		RAIVA P784 R2			CCTCAAAGTCTTGTGGGAAGA	
<i>Reoviridae</i>	Hemi-nested PCR	VP6 ROTA-F	VP6	160 bp	GATGTCTGTACTCTTGT	Vecchia et al., 2012
		VP6 ROTA-R			GGTAGATACCAATTCCTCC	

<i>Orthomyxoviridae</i>	PCR	FLUA F FLUA R	PB1	130 pb	GACCRATCTGTGACCTCTGAC AGGGCATTYTGACAAKCGTCTA	Ramírez-Palacios et al., 2018
<i>Orthomyxoviridae</i>	PCR	FLUAPB1-F FLUAPB1-R	PB1	402 pb	ATGATGATGGGNATGTTYAAAYATG CNGGCCNAKDTCRYTRTDTATCAT	Kandell et al., 2019
<i>Orthomyxoviridae</i>	RT-qPCR	M + 25 M - 124 M + 64	M gene (Matrix)		AGA TGA GTC TTC TAA CCG AGG TCG TGC AAA AAC ATC TTC AAG TCT CTG FAM-TCA GGC CCC CTC AAA GCC GA-TAMRA	Spackman et al., 2002
<i>Adenoviridae</i>	nested-PCR	EF - POL-F ER - POL-R IF - POL-NF IR - POL-NR	DNA pol	261 pb	CAGCKCKGTTTRTGAYAGGGT GCHACCATYAGCTCCAATC GGGCTCRTRTCCAGCA TATGACATCTGYGGCATGTA	Li et al., 2010

3.2.3 Sequenciamento e análise filogenética

Os produtos amplificados foram sequenciados com os mesmos *primers* da reação de amplificação e utilizando o método de Sanger (CROSSLEY B.M. et al., 2020). As sequências obtidas foram verificadas utilizando *Basic Local Alignment Search Tool* (BLASTn). A análise filogenética foi realizada com sequências obtidas e sequências disponíveis no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). As sequências foram alinhadas com o programa ClustalW® dentro do pacote MEGA X®. As árvores filogenéticas das sequências de nucleotídeos foram construídas utilizando o método *Neighbor-Joining* (NJ) no pacote de software MEGA X, baseado no método de estimativa de distância de *Kimura-2 parameter* e a reamostragem *Bootstrap* foi realizada para cada análise (1000 replicações).

3.3 Resultados

Os 31 animais capturados, e identificados: um morcego da espécie *Chrotopterus auritus*, dezenove morcegos da espécie *Desmodus rotundus* e onze da espécie *Molossus molossus*. A maioria dos espécimes foram capturados em área urbana, conforme descrito na tabela 1.

TABELA 1 - Espécies de morcegos e sua localização no momento da captura

Espécie	Área (n)		Tipo de abrigo	Município
	Rural	Urbana		
<i>Chrotopterus auritus</i>	1	-	Artificial	Irani
<i>Desmodus rotundus</i>	12	7	Artificial e Natural (+)	Água Doce, Catanduvas, Concórdia, Irani (15SO: + mastadenovírus), Joaçaba, Lacerdópolis, Paial, Xanxerê
<i>Molossus molossus</i>	-	11	Artificial	Arabutã (SR6: + MERS-Like) e Concórdia

A amostra de suabe retal 6 (6SR), referente a um animal da espécie *M. molossus*, capturado no município de Arabutã, foi positiva para coronavírus e a amostra 15 de suabe oral, de um animal da espécie *D. rotundus* (15SO) foi positiva para adenovírus. No sequenciamento, obteve-se um fragmento de 352 bp e 174 bp para as amostras 6SR e 15SO. A análise BLASTn da sequência 6SR revelou alta identidade (até 98,86%) com coronavírus relacionado à MERS. Já a sequência 15SO apresentou alta identidade (até 100%) com mastadenovírus humano.

Na análise filogenética, a amostra 6SR ficou agrupada com merbecovírus de morcegos (Figura 1), ficando agrupado no mesmo clado com uma amostra brasileira colhida de morcego insetívoro da espécie *Eumops glaucinus*, capturado em área urbana de Araçatuba, SP. Na análise filogenética da amostra 15SO, essa ficou agrupada com amostra de mastadenovírus humano C (Figura 2), sendo próximo geneticamente de mastadenovírus de morcegos, mas apresentando divergências genéticas.

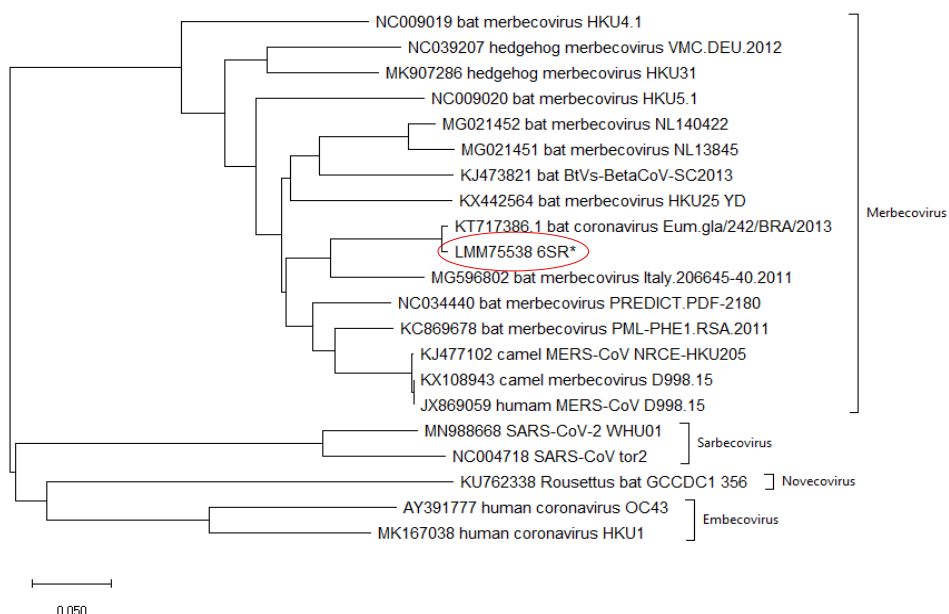


Figura 1 - Árvore filogenética de amostras de coronavírus utilizando sequências parciais (352 pb) da região codificadora para a RNA polimerase RNA-dependente (RdRp). O asterisco indica a amostra sequenciada neste estudo.

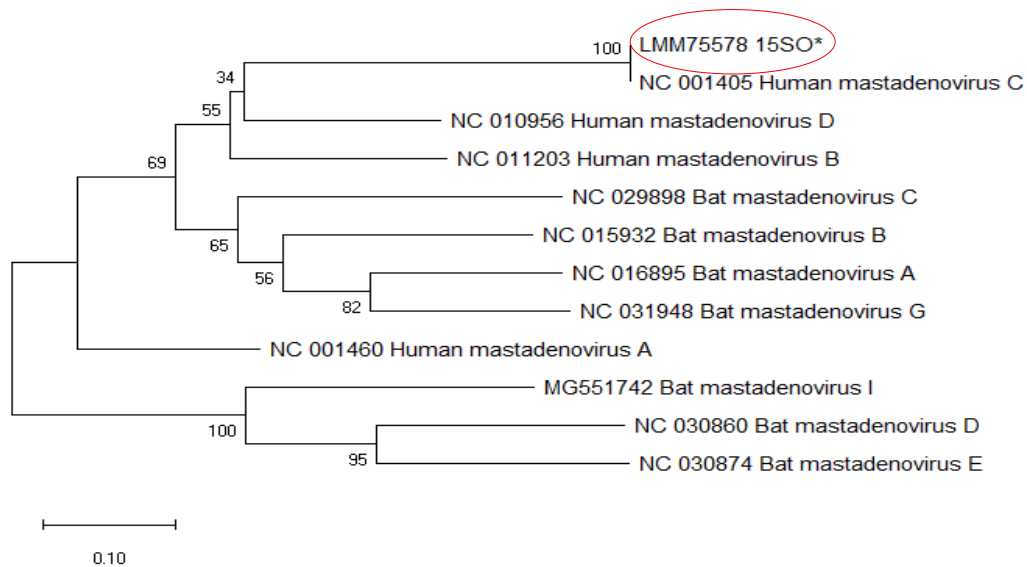


Figura 2 - Árvore filogenética de cepas de mastadenovírus utilizando das sequências parciais (174 pb) da região codificadora para a DNA polimerase. O asterisco indica a amostra sequenciada neste estudo.

3.4 Discussão

Os morcegos foram implicados como o principal reservatório do coronavírus e fonte de transferência para humanos (STOUT, A. E. et al., 2021). Sabe-se que os morcegos estiveram envolvidos em ao menos três casos de disseminação do coronavírus para os humanos, mais recentemente, o SARS-CoV-2, causa da pandemia de coronavírus COVID-19 (HERNÁNDEZ-AGUILAR, I. et al., 2021).

Como observado no presente estudo, uma amostra de suabe retal (6SR) foi positiva para coronavírus relacionado à MERS. Poucos estudos foram realizados no Brasil para detectar a presença de coronavírus em morcegos. Uma amostra de conteúdo oral (15SO) foi positiva para *Adenovirus*, sendo classificada como *mastadenovirus* humano.

Os *Alfa* e *Beta* Coronavírus podem infectar diferentes hospedeiros, uma variedade de coronavírus ocorrem em morcegos, destacando a necessidade do monitoramento extenso dessa população (COHEN *et al.*, 2023).

A maioria das pesquisas avaliou a presença de coronavírus em fezes/conteúdo entérico (ASANO et al., 2016; CORMAN et al., 2013), enquanto poucos estudos analisaram amostras de esfregaços orais/retais (ANTHONY et al., 2017; BARNABÉ et al., 2015).

Os CoVs são divididos em quatro gêneros, dos quais apenas membros dos gêneros α -CoV e β -CoV são conhecidos por infectar humanos (BERNARD, E. et al, 2011). Na maior parte dos estudos realizados no Brasil, os coronavírus encontrados pertencem ao gênero α -CoV, e apenas três sequências do gênero β -CoV foram detectadas (BRANDÃO et al., 2008). Alguns β -CoV presentes em morcegos causaram surtos graves de doenças em humanos como o vírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), e a síndrome respiratória do oriente médio (MERS-CoV) (GÓES et al., 2016). De acordo com o relatório da World Health Organization (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/igo>), de 2012 até 2014, 27 países notificaram a doença, com 2600 casos da doença confirmados em humanos.

Cada vez mais, morcegos são utilizados em modelos de estudos que buscam entender as características específicas desses animais com a capacidade de voo, tolerância a infecções, longevidade, metabolismo, e dessa forma tentar prever o surgimento de novos vírus com potencial pandêmico (UUSITALO, R. J. et al., 2024).

Os coronavírus humanos são considerados de origem zoonótica. As evidências científicas sugerem que os coronavírus SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-COV-2 poderiam provavelmente atingir humanos através de outros hospedeiros intermediários, como camelos e morcegos (AZHAR et al., 2014). De acordo com a World Health Organization (<https://www.who.int/>), a transmissão entre humanos é possível, principalmente em ambientes hospitalares, onde a transmissão entre humanos parece ser mais frequente. Nesse sentido, o monitoramento contínuo de morcegos é uma ferramenta importante para auxiliar na compreensão da epidemiologia do vírus e supostos surtos em humanos.

No presente estudo a detecção de CoVs foi realizada através da amplificação das regiões do gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), conforme descrito por CHU et al., (2011). O CoV usa uma RdRp para a replicação de seu genoma e a transcrição de seus genes (HILGENFELD et al., 2013). As RdRps estão envolvidas no processo de replicação do genoma e na codificação de algumas das proteínas importantes para o funcionamento adequado e sobrevivência de vírus (POLTRONIERI, P. et al., 2015). Por esse motivo, o RdRp é um alvo terapêutico importante em doenças causadas por vírus de RNA.

Tal como na pandemia de COVID-19, que foi causada por um SARS-CoV-2 de origem em morcego geneticamente distante do SARS-CoV, o *merbecovirus* de morcego, geneticamente diferente dos vírus da MERS-CoV, pode desencadear um novo surto em humanos através de processos indefinidos. Estudos epidemiológicos em larga escala na população de morcegos podem revelar a ecologia e a natureza de beta coronavírus na vida selvagem.

3.3 Conclusão

A distribuição espacial dos registros de morcegos no Brasil indica que menos de 10% do país pode ser considerado minimamente amostrado, e em cerca de 60% do território brasileiro não existe sequer um único registro formal de espécies de morcegos (BERNARD, E. et al, 2011).

Foi detectado um *merbecovirus* em morcegos selvagens no Meio Oeste de Santa Catarina, Brasil. Pode-se verificar que há circulação do *Beta Coronavirus* (MERS-like), entre os morcegos no estado de Santa Catarina. Também foi confirmada presença de *Adenovirus* em amostra de suabe oral de *D. rotundus* colhida no município de Irani.

Trabalhos buscando conhecer vírus presentes em populações pouco estudadas, como os morcegos, são necessários para entender o comportamento de microrganismos ao longo do tempo.

4 **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O estudo foi autorizado pelos comitês de ética do Instituto Federal Catarinense e Ministério do Meio Ambiente – ICMBio. Contou com o apoio do Instituto Federal Catarinense, EMBRAPA e FEEVALE.

5 **REFERÊNCIAS**

ANTHONY, S. et al. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evolution*, v. 3, n. 1, p. vex012, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>. Acesso em: 20 jul. 2024.

ALVES, R. S. et al. Detection of coronavirus in vampire bats (*Desmodus rotundus*) in southern Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, v. 69, n. 4, p. 2384-2389, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.14150>. Acesso em: 20 nov. 2023.

ANDERSEN, K.G. et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nature Medicine*, v. 26, p. 450-455, 2020. Disponível em: DOI: 10.1038/s41591-020-0820-9.

ASANO, K. M. et al. Alphacoronavirus in urban Molossidae and Phyllostomidae bats, Brazil. *Virology Journal*, v. 13, n. 1, p. 110, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0569-4>. Acesso em: 20 jul. 2024.

AZHAR, E. I. et al. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *New England Journal of Medicine*, v. 370, p. 2499–2505, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1401505>. Acesso em: 20 jul. 2024.

AHN, M. et al. Bat ASC2 suppresses inflammasomes and ameliorates inflammatory diseases. *Cell*, v. 186, n. 10, p.2144-2159, 2023. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(23\)00333-1](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(23)00333-1).

AHN, M. et al. Dampened NLRP3-mediated inflammation in bats and implications for a special viral reservoir host. *Nature Microbiology*, v. 4, n. 5, p. 789–799, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0371-3>. Acesso em: 08 mai. 2024.

BANYARD, A. C. Et al. Rabies pathogenesis and immunology. *Revue Scientifique et Technique*, n. 37, v. 2, p. 323-330, 2018. Disponível em: DOI: 10.20506/rst.37.2.805.

BANKEVICH, A. et al. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>. Acesso em: 12 jun. 2024.

BARNABÉ, C. et al. Bat coronavirus in Brazil related to Appalachian Ridge and porcine epidemic diarrhea viruses. *Emerging Infectious Diseases*, v. 21, n. 4, p. 729–731, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2104.141783>. Acesso em: 20 jul. 2024.

BERGNER, L. M. et al. Characterizing and Evaluating the Zoonotic Potential of Novel Viruses Discovered in Vampire Bats. *Viruses*, v. 13, n. 252, p. 1-18, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v13020252>.

BERNARD, E. et al. Discovering the Brazilian bat fauna: a task for two centuries? *The Mammal Society*, v. 41, n. 1, p.23-39, 2011. Disponível em: DOI: 10.1128/JVI.00127-20.

BEZERRA, V. L. et al. SARS-CoV-2 como agente causador da COVID-19: epidemiologia, características genéticas, manifestações clínicas, diagnóstico e possíveis tratamentos. *Brazilian Journal of Health Review*, v. 3, n. 4, p. 8452-8467, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34119/bjhrv3n4-097>. Acesso em: 10 mai. 2024.

BRANDÃO, P. E. et al. A coronavirus detected in the vampirebat *Desmodus rotundus*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 12, n. 6, p. 466–468, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1413-86702008000600003>. Acesso em: 20 jul. 2024.

Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Plano de vigilância de Influenza Aviária e Doença de Newcastle. ofício-circular número 51/DSA/SDA/MAPA, 2022, Brasília, Brasil. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/pnsa/imagens/Modelo_de_Manual_colheita_PNSA.versao_01.Final.pdf. BONI, M.F. et al., 2020. Evolutionary origins of the SARS-CoV-2 sarbecovirus lineage responsible for the COVID19 pandemic. *Nature Microbiology*, v. 5, p. 1408-1417, 2020. Disponível em: DOI:10.1038/s41564-020-0771-4.

CHU, D. K. et al. Avian coronavirus in wild aquatic birds. *Journal of Virology*, v. 85, n. 23, p. 12815-12820, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.05838-11>. Acesso em: 20 jul. 2024.

COHEN, L. E. et al. Coronavirus sampling and surveillance in bats from 1996–2019: a systematic review and meta-analysis. *Nature Microbiology*, v. 8, n. 6, p. 1176-1186, 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41564-023-01375-1>. Acesso em: 22 nov. 2023.

CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL – CONCEA. Lei número 11.794, de 8 de outubro de 2008. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 22 de fev. 2018. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/1794.htm.

CORMAN, V. M. et al. Highly diversified coronaviruses in neotropical bats. *The Journal of General Virology*, v. 94, n. 9, p. 1984–1994, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1099/vir.0.054841-0>. Acesso em: 20 jul. 2024.

CROSSLEY, B.M. et al. Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 32, n. 6, p. 767-775, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1040638720905833>. DE BENEDICTIS, P. et al. Alpha and lineage C betaCoV infections in Italian bats. *Virus Genes*, v. 48, p. 366, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11262-013-1008-x>. Acesso em: 20 jul. 2024.

DESPRÉS, G. D. et al. Emerging reoviruses: the next pandemic?. *Virologie*, n. 27, v. 2, p. 50-62, 2023. Disponível em: DOI: 10.1684/vir.2023.1009.

DEUBELBEISS, A. et al. Real-Time RT-PCR for the Detection of Lyssavirus Species. *Journal of Veterinary Medicine*, n. 2014, article id. 476091, 2014. Disponível em: DOI: 10.1155/2014/476091.

DELAUNE, D. et al. A novel SARS-CoV-2 related coronavirus in bats from Cambodia. *Nature Communications*, v. 12, n. 1, p. 1-9, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-021-26809-4>. Acesso em: 11 mai. 2024.

DOS REIS, Nelio Roberto. Morcegos do Brasil. 1. ed. Londrina, PR, 2007.

DREXLER, J. F. et al. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Research*, v. 101, p. 45-56, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>. Acesso em: 22 nov. 2023.

DUDAS, G. et al. MERS-CoV spillover at the camel-human interface. *Elife*, v. 7, p. 1-35, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7554/elife.31257>. Acesso em: 29 mar. 2024.

GÓES, L. et al. Genetic diversity of bats coronaviruses in the Atlantic Forest hotspot biome, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 44, p. 510-513, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2016.07.034>. Acesso em: 20 jul. 2024.

HERNÁNDES-AGUIAR, I. et al. Coronaviruses in bats: A review for the americas. *Viruses*, v. 13, n. 1226, p.14, 2021. Disponível em: doi:10.3390/v13071226.

HILGENFELD, R.; PEIRIS, M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Research*, v. 100, p. 286-295, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.08.001>. Acesso em: 20 jul. 2024.

HOLMES, E. C. et al. The evolution of Ebola virus: Insights from the 2013-2016 epidemic. *Nature*, v. 538, n. 7624, p. 193-200, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature19790>. Acesso em: 08 mai. 2024.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Panorama: Concórdia*. 2019. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sc/concordia/panorama>. Acesso em: 23 nov. 2023.

JAIMES, J.A. et al. Phylogenetic Analysis and Structural Modeling of SARS-CoV-2 Spike Protein Reveals an Evolutionary Distinct and Proteolytically Sensitive Activation Loop. *Journal of Molecular Biology*, v. 432, n. 10, p. 3309-3325, 2020. Disponível em: DOI: 10.1016/j.jmb.2020.04.009.

KALANTAR, K. L. et al. IDseq—an open source cloud-based pipeline and analysis service for metagenomic pathogen detection and monitoring. *GigaScience*, v. 9, n. 10, p. 111, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/gigascience/giaa111>. Acesso em: 20 jul. 2024.

KANDEIL, A. et al. Isolation and Characterization of a Distinct Influenza A Virus from Egyptian Bats. *Journal of Virology*, v. 93, n. 2, e01059-18, 2019. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/JVI.01059-18>. Acesso em: 24 mar. 2024.

LI, F. Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. *Journal of Virology*, v. 89, n. 4, p. 1954-1964, 2015. Disponível em: DOI: 10.1128/JVI.02615-14.

LI, L. et al. Epidemiologia e caracterização genômica de dois novos coronavírus relacionados à SARS em morcegos-ferradura de Guangdong, China. *Mbio*, v. 13, n. 3, p. 463-485, 2022. Disponível em DOI: 10.1128/mbio.00463-22.

LI, W. et al. Bats are natural reservoirs of SARS-LIKE coronaviruses. *Science*, v. 310, n. 5748, p. 676-679, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1118391>.

LI, Y. et al. Host range, prevalence, and genetic diversity of adenoviruses in bats. *Journal of virology*, n. 84, v. 8, p. 3889-3897, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.02497-09>.

LIMA F.E.S. et al. Detection of Alphacoronavirus in velvety free-tailed bats (*Molossus molossus*) and Brazilian free-tailed bats (*Tadarida brasiliensis*) from urban area of Southern Brazil. *Virus Genes*, v. 47, p. 164-167, 2013. Disponível em: DOI 10.1007/s11262-013-0899-x.

LIU, X. et al. Global Diversification and Distribution of Coronaviruses with Furin Cleavage Sites. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, p. 1-8, 2021. Disponível em: DOI: 10.3389/fmicb.2021.649314.

LIU, Z. et al. Severe zoonotic viruses carried by different species of bats and their regional distribution. *Clinical Microbiology and Infection*, n. 30, p. 206-210, 2024. Disponível em: DOI: 10.1016/j.cmi.2023.09.025.LOUIS,

M. et al. Bat-borne viruses and their impact on human health. *Journal of Medical Virology*, v. 89, n. 12, p. 2097-2107, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jmv.25047>. Acesso em: 24 mar. 2024.

MEHLE, Andre. Unusual influenza A viruses in bats. *Viruses*, n.6, v. 9, p. 3438-3449, 2014. Disponível em: DOI: 10.3390/v6093438. MONTIEL, J. et al. Detection of MERS-CoV in bats and humans in Saudi Arabia. *Emerging Infectious Diseases*, v. 21, n. 6, p. 972-974, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2106.141612>. Acesso em: 25 jul. 2024.

MURAKAMI, S. et al. Detecção e caracterização de sarbecovírus de morcego filogeneticamente relacionado ao SARS-CoV-2, Japão. *Emerging Infectious Diseases*, v. 26, n. 12, p. 3025-3029, 2020. Disponível em: 10.3201/eid2612.203386.

NAGY, E. et al. A novel alphacoronavirus in the saliva of fruit bats. *Journal of Virology*, v. 87, n. 12, p. 6907-6918, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.00532-13>. Acesso em: 20 jul. 2024.

NEELY, B. A. et al. Surveying the Vampire Bat (*Desmodus rotundus*) Serum Proteome: A Resource for Identifying Immunological Proteins and Detecting Pathogens. *National Institute of Standards and Technology*, v.20, n. 5, p. 2547-2559, 2021. Disponível em: DOI: 10.1021/acs.jproteome.0c00995.

NICOLA, M. et al. The socio-economic implications of the coronavirus pandemic (COVID-19): A review. *International Journal of Gurgery*, v.78, p. 185-193, 2020. Disponível em: DOI: 10.1016/j.ijssu.2020.04.018.

O'SHEA T.J. et al. Bat flight and zoonotic viruses. *Emerging infectious diseases*, v. 20, n. 5, p.741-745, 2014. Disponível em <https://doi.org/10.3201/eid2005.130539>. Acessado em: 06/10/2024.

PIROLI, D. et al. Targeting SARS-CoV-2 Spike Protein/ACE2 Protein-Protein Interactions: a Computational Study. *Molecular informatics*, v. 40, n. 6, p. 1-8, 2021. Disponível em: DOI: 10.1002/MINF.202060080.

POLTRONIERI, P. et al. RNA Viruses: RNA Roles in Pathogenesis, Coreplication and Viral Load. *Current Genomics*, v. 16, n. 5, p. 327-335, 2015. Disponível em: DOI: 10.2174/1389202916666150707160613.

PEIRIS, J. S. M. et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *The Lancet*, v. 361, n. 9366, p. 1319–1325, 2003. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13077-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13077-2). Acesso em: 20 jul. 2024.

RAMIREZ-PALACIOS, L. R. et al. Molecular diagnosis of microbial copathogens with influenza A (H1N1) pdm09 in Oaxaca, Mexico. *Research and reports in tropical medicine*, n. 9, p. 49-62. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/RRTM.S144075>.

RAMOS, A. et al. Human infection with bat-derived coronaviruses. *Emerging Infectious Diseases*, v. 27, n. 3, p. 564-573, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2703.200497>. Acesso em: 22 nov. 2023.

RIMA, B. et al. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Paramyxoviridae*. *The Journal of general virology*, n. 100, v. 12, p. 1593-1594, 2019. Disponível em: DOI: 10.1099/jgy.0.001328.

SCHLOTTAU, K. et al. SARS-CoV-2 em morcegos frugívoros, furões, porcos e galinhas: um estudo experimental de transmissão. *The Lancet Microbe*, v. 1, n. 5, p. 218-225, 2020. Disponível em: [https://DOI.ORG/10.1016/S2666-5247\(20\)30089-6](https://DOI.ORG/10.1016/S2666-5247(20)30089-6).

SHI, Z. et al. Identification of the SARS-CoV-like coronavirus in a bat. *Science*, v. 310, n. 5748, p. 676–679, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.1118391>. Acesso em: 20 jul. 2024.

SOARES, R. M. et al. A heminested polymerase chain reaction for the detection of Brazilian rabies isolates from vampire bats and herbivores. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, n. 91, v.1, p. 109-111, 2002. Disponível em: <http://doi.org/10.1590/s0074-02762002000100019>.

SPACKMAN, E. et al. Development of a Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Type A Influenza Virus and the Avian H5 and H7 Hemagglutinin Subtypes. *Journal of clinical microbiology*, n. 9, v. 40, p. 3256-3260, 2002. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/jcm.40.9.3256-3260.2002>.

STOUT, A. E. et al. Viral and Host Attributes Underlying the Origins of Zoonotic Coronaviruses in Bats. *Comparative medicine*, n. 5, v. 71, p. 1-9, 2021. Disponível em: DOI: 10.30802/AALAS-CM-21-000027.

TAUBENBERGER, J.K. et al. Influenza Virus Evolution, Host Adaptation, and Pandemic Formation. *Cell Host & Microbe*, n. 7, v.6, p. 440-451, 2010. Disponível em: DOI 10.1016/j.chom.2010.05.009.

TIAN, J., et al. Emerging viruses: Cross-species transmission of coronaviruses, filoviruses, henipaviruses, and rotaviruses from bats. *Cell Report*, n.39, v. 11, p. 1-20 (110969), 2022. Disponível em: DOI: 10.1016/j.celrep.2022.110969.

THIBAUT, P. A. et al. Zoonotic potential of emerging paramyxoviruses: knowns and unknowns. *Advances Virus Research*, n. 2, v. 98, p. 1–55, 2017. Disponível em: DOI: 10.1016/bs.aivir.2016.12.001.

TIDONA, C. Et al. The Springer Index of Viruses. 2 ed. New York, EUA: editora Springer Science,2011.

TAO, Y.; TONG, S. Complete Genome Sequence of a Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus from Kenyan Bats. *Microbiology Resource Announcements*, v. 8, n. 28, p. 1-5, 2019. Disponível em <https://doi.org/10.1128/mra.00548-19>.

TYRRELL, D. A.J. et al. Cultivation of viruses from a high proportion of patients with colds. *The Lancet*, v. 287, n. 7428, p. 76-77, 1966. Disponível em: DOI: 10.1136/bmj.1.5448.1467.

TONG, S. et al. Sensitive and broadly reactive reverse transcription-PCR assays to detect novel paramyxoviruses. *Journal of clinical microbiology*, v. 46, n. 8, p. 2652-2658. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JCM.00192-08>.

UUSITALO, R. J. et al. Current and future environmental suitability for bats hosting potential zoonotic pathogens in rural Kenya. *Ecology and Evolution*, n.14, v. 6, p. 1-13 (e11572), 2024. Disponível em DOI: 10.1002/ece3.11572.

VECCHIA, A. D. et al. Assessment of enteric viruses in a sewage treatment plant located in Porto Alegre, southern Brazil. *Brazilian journal of biology = Revista Brasileira de biologia*, n. 72, v. 4, p. 839-846, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1519-69842012000500009>.

WACHARAPLUESADEE, S. et al. Evidence for SARS-CoV-2 Related Coronaviruses Circulating in Bats and Pangolins in Southeast Asia. *Nature Communications*, v. 12, n. 972, 2021. Disponível em: <http://doi.org/10.1038/s41467-021-21240-1>.

WADHWAW, A. A Panlissavirus Taqman Real-Time RT-PCR Assay for the Detection of Highly Variable Rabies virus and Other Lyssaviruses. *PloS neglected tropical diseases*, v. 11, n. 1, p. 1-17, 2017 (e0005258). Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005258>.

WANG, L. et al. Bat coronaviruses and their potential to infect humans. *Journal of Virology*, v. 88, n. 11, p. 6334-6342, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.00218-14>. Acesso em: 23 nov. 2023.

WANG, Y. et al. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *Journal of Virology*, v.94, n. 7, p. 1-9, 2020. Disponível em: DOI: 10.1128/JVI.00127-20.

WHO. World Health Organization. *Coronaviruses*. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>. Acesso em: 20 jul. 2024. WHO. World Health Organization. MERS-CoV investigations and studies. Disponível em: <https://www.who.int/initiatives/mers-cov-investigations-and-studies>. Acessado em: 02 jan. 2025.

WARREL, M. J. et al. Raiva e outras doenças causadas por lyssavírus. *The Lancet*, n. 9413, v. 363, p. 959-969, 2004. Disponível em: DOI: 10.1016/s0140-6736(04)15792-9.

WILKINSON, G. S. et al. Life history, ecology and longevity in bats. *Aging Cell*, v. 1, n. 2, p. 124-155, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1474-9728.2002.00020.x>.

WOO, P.C. et al. Molecular diversity of coronaviruses in bats. *Journal of Virology*, v. 3351, n. 1, p. 180-187, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2006.02.041>.

ZAKI, A. M. et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *The New England Journal of Medicine*, v. 367, n. 19, p.1814-1820, 22012. Disponível em: DOI: 10.1056/NEJMoa1211721.

ZHOU, H. et al. Identification of novel bat coronaviruses sheds light on the evolutionary origins of SARS-CoV-2 and related viruses. *Cell*, v.184, n. 17, p. 4380-4391, 2021. Disponível em: DOI: 10.1016/j.cell.2021.06.008.

6 ANEXOS**ANEXO 1 - Parecer do comitê de ética - Instituto Federal Catarinense**

INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E INOVAÇÃO
COMITÊ DE ÉTICA EM USO DE ANIMAIS – IFCATARINENSE CÂMPUS CONCÓRDIA

Concórdia, 20 de dezembro de 2021.

PARECER SUBSTANCIADO

Protocolo CEUA – IF Catarinense Campus Concórdia no: **07/2021**

Título: Coronavirus em Morcegos: Prevalência no Estado de Santa Catarina

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Diogenes Dezen

INSTITUIÇÃO/UNIDADE: IFC - Concórdia

PARECER: APROVADO

Atenciosamente,



Lucio Pereira Rauber
Coordenador CEUA/IFC campus Concórdia
Portaria Reitoria nº 1081/2019 de 22 de abril de 2019

ANEXO 2 - Autorização SISBIO



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82243-1	Data da Emissão: 23/09/2022 09:38:34	Data da Revalidação*: 23/09/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Diogenes Dezen	CPF: 027.864.899-11
Título do Projeto: Identificação e classificação de vírus da família Coronavirus em Morcegos capturados em Santa Catarina	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	CNPJ: 10.635.424/0005-00

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Análise dos dados	05/2023	10/2023
2	Coleta de amostras biológicas	08/2022	01/2023
3	Ensaio moleculares	12/2022	05/2023
4	Redação do manuscrito e publicação dos resultados	08/2023	03/2024

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	JANICE REIS CIACCI ZANELLA	Processamento das amostras e análise dos dados	586.812.306-97	Brasileira
2	Fernando Rosado Spilki	Realização de ensaios moleculares e análise de dados	900.034.700-91	Brasileira
3	LEONARDO JAQUES SAMPIETRO	Coleta e processamento das amostras	023.308.559-90	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822430120220923

Página 1/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82243-1	Data da Emissão: 23/09/2022 09:38:34	Data da Revalidação*: 23/09/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Diogenes Dezen	CPF: 027.864.899-11
Título do Projeto: Identificação e classificação de vírus da família Coronavirus em Morcegos capturados em Santa Catarina	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	CNPJ: 10.635.424/0005-00

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Deve-se observar as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
9	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
10	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822430120220923

Página 2/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82243-1	Data da Emissão: 23/09/2022 09:38:34	Data da Revalidação*: 23/09/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Diogenes Dezen	CPF: 027.864.899-11
Título do Projeto: Identificação e classificação de vírus da família Coronavirus em Morcegos capturados em Santa Catarina	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	CNPJ: 10.635.424/0005-00

Outras ressalvas

1	CENAP Atibaia-SP
---	------------------

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Xanxerê-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
2	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Tubarão-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
3	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	São Lourenço do Oeste-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	São Joaquim-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
5	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Rio do Sul-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
6	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Mafra-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
7	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Lages-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
8	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Joinville-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
9	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Criciúma-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
10	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Joaçaba-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Chapecó-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
12	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Itajaí-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
13	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Canoinhas-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
14	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Campos Novos-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
15	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Caçador-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822430120220923

Página 3/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82243-1	Data da Emissão: 23/09/2022 09:38:34	Data da Revalidação*: 23/09/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Diogenes Dezen	CPF: 027.864.899-11
Título do Projeto: Identificação e classificação de vírus da família Coronavirus em Morcegos capturados em Santa Catarina	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	CNPJ: 10.635.424/0005-00

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
16	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Concórdia-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
17	Áreas do entorno de grutas onde habitam morcegos	Blumenau-SC	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Atividades

#	Atividade	Grupo de Atividade
1	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Chiroptera	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Chiroptera	-
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Chiroptera	50

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município.

A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Materiais e Métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Fezes, Sangue, Outras amostras biológicas(Saliva)
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	EMBRAPA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA	Laboratório
2	INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822430120220923

Página 4/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 82243-1	Data da Emissão: 23/09/2022 09:38:34	Data da Revalidação*: 23/09/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Diogenes Dezen	CPF: 027.864.899-11
Título do Projeto: Identificação e classificação de vírus da família Coronavirus em Morcegos capturados em Santa Catarina	
Nome da Instituição: INSTITUTO FEDERAL CATARINENSE	CNPJ: 10.635.424/0005-00

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de Amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0822430120220923

Página 5/5

ANEXO 3 - Amostras secuenciadas no estudo

>LMM75538_6SR_consensus_sequence Alignment of 2 sequences: 75538R_B11 (reversed), 75538F_A11

ATCTTTGCTTCTCATATTAGCACGTAAGCATAACACTTGTGTAGTACAAGTGATAGATTTTACCGCTTAGCTAATGAGTGTGCTCAAGTGTTAAGTGAATATGTGTTG
TGTGGTGGTGGTTACTACGTA AACCTGGTGGTACCAGTAGCGGAGATGCCACTACTGCATACGCCAATAGTGT TTTTAAACATCTTGCAAGCGACTACTGCAAATGTTA
GCGCTTTAATTGGCACTAATGGCAACAAAATTGTTGATAAAGAAATAAAGACATGCAGTTTGATCTGTATGTTAATATTTATAGGAGTCAAATGCCTGACCNCTAAATT
TGTTGAGCGCTATTACGCATT

>LMM75578_15SO_consensus_sequence Alignment of 2 sequences: 75578R_B08 (reversed), 75578F_A08

GAATGGCGGTAGTGGGTCTAGCTGCGTCTCGTCCGGGGGTCTGCGTCCACGGTAAGACCCCGGGCAGCAGGCGCGCGTGAAGTAGTCTATCTTGATCCTTGCAA
GTCTAGCGCCTGCTGCCATGCGCGGGCGGCAAGCGCGGCTCGTATGGGTTGAGTGGGGGACCCCA

ANEXO 4 - Coleta e captura dos quirópteros

CAPTURA DE ANIMAL EM ABRIGO ARTIFICIAL



ANEXO 6 CAPTURA EM ABRIGO NATURAL



ANEXO 7 COLETA DE MATERIAL



ANEXO 8 COLETA DE MATERIAL



