KAREN MIYUKI ASANO

**Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo
A em quirópteros do Estado de São Paulo**

São Paulo
2014

KAREN MIYUKI ASANO

**Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo A em
quirópteros do Estado de São Paulo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Paulo Eduardo Brandão

São Paulo

2014

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.3070
FMVZ

Asano, Karen Miyuki
Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo A em
quirópteros do Estado de São Paulo / Karen Miyuki Asano. -- 2014.
115 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo,
2015.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Brandão.

1. Coronavírus. 2. Rotavírus. 3. Zoonoses. 4. Morcego. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "OCORRÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CORONAVIRUS E ROTAVIRUS EM DIVERSAS ESPÉCIES DE MORCEGOS", protocolado sob o CEUA nº 2637030714, utilizando 250 Espécies silvestres brasileiras (250 machos), sob a responsabilidade de Paulo Eduardo Brandão, foi aprovado na reunião de 17/09/2014, e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research "OCCURRENCE AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF CORONAVIRUS AND ROTAVIRUS IN SEVERAL SPECIES OF BATS", protocol number CEUA 2637030714, utilizing 250 Brazilian wild species (250 males), under the responsibility Paulo Eduardo Brandão, was approved in the meeting of day 09/17/2014, and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo.

Atenciosamente,

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ASANO, Karen Miyuki

Título: Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo A em quirópteros do Estado de São Paulo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

**Aos meus pais, Kazuyo Asano e Tuioshi Asano,
exemplos de vida, de caráter e de amor. Obrigada pelo
apoio incondicional ao longo de todos esses anos.**

**Ao Leandro Gustavo da Silva, pelo companheirismo
amor e carinho.**

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. **Paulo Eduardo Brandão**, pela brilhante orientação, pelos ensinamentos e pela paciência em todos esses anos.

Ao prof. Dr. **Fábio Gregori**, pelos ensinamentos, simpatia e disponibilidade em me ajudar com os rotavírus.

Ao prof. Dr. **Leonardo José Richtzenhain**, pelo exemplo de sabedoria.

Ao prof. Dr **Fernando Ferreira** por sua dedicação com o programa de pós-graduação do VPS.

Aos demais professores do VPS, pela agradável convivência.

À **Aline Hora**, minha ex-vizinha, pela ajuda com as reações e quadros, e pela amizade.

Aos amigos da pós-graduação **Carolina Torres, Juliana Nogueira, Iracema Nunes, Sibele Souza, Paloma Tonietti, Fernanda Dornelas, Katya Ono, Giselle Ayres, Luis Espinosa**, pela amizade, pelos bons momentos e por toda ajuda.

Às técnicas do LABMAS **Sueli Taniwaki e Sheila Silva**, pela amizade, orientação técnica e ajuda na realização deste trabalho.

Aos funcionários da secretaria do VPS, **Cris, Danival, e Virginia**.

Aos demais pós-graduandos e funcionários do VPS pela agradável convivência.

Aos amigos PqCs **Enio Mori, Willian Fahl, Keila Iamamoto, Karin Scheffer**, pela colaboração nas coletas e identificação dos morcegos, pela amizade e pelos momentos divertidos.

Ao **Instituto Pasteur**, à **Luciana Hardt, Andrea Rodrigues e Juliana Castilho** por me concederem condições para realização deste trabalho.

Aos demais funcionários do Instituto Pasteur.

A todos os funcionários da Biblioteca Virginie Buff D'Ápice, em especial à **Neusa Habe** e à **Elza Faquim** pela revisão da tese.

Às amigas **Fernada Isobe, Laura Henriques, Miriam Sasaki, Moema Ramos e Simone Miyashiro** por estarem sempre por perto quando preciso.

Aos meus queridos irmãos, **Fabio Senishi Asano e Roberto Toshihiro Asano**, pela amizade, pelos ótimos momentos e por serem tão carinhosos.

A todos que ajudaram direta ou indiretamente na execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

ASANO, K. M. **Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo A em quirópteros do Estado de São Paulo.** [Occurrence and molecular characterization of coronavirus and group A rotavirus in chiropterans of São Paulo State.] 2015. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Diversas doenças virais emergentes e re-emergentes têm sido descritas em morcegos. As alterações ambientais provocadas por seres humanos associada a adaptação dos morcegos às áreas urbanas aumentam as chances da transmissão dessas doenças para humanos e animais domésticos. O estudo das coronaviroses associadas a esse hospedeiro tem evidenciado que os morcegos atuam como reservatório dessa doença, enquanto o estudo das rotaviroses ainda foi pouco explorado. Este estudo tem como objetivo verificar a ocorrência de coronavírus e rotavírus em diversas espécies de morcegos do Estado de São Paulo, Brasil, e realizar inferências filogenéticas a partir dos genes *RdRp* e *S* dos coronavírus, assim como de genes de proteínas estruturais e não estruturais dos rotavírus. Para tanto, foi utilizada a RT-PCR seguida de sequenciamento de DNA. Para análise filogenética e de diversidade molecular foi utilizado critério de otimização de distância e cálculo das identidades de nucleotídeos e aminoácidos entre as sequências obtidas e sequências recuperadas do *GenBank*. A ocorrência de coronavírus foi de 2,95% (9/305) e a de rotavírus de 9,18% (28/305). De acordo com a análise filogenética do gene da *RdRp* oito amostras foram classificadas como alphacoronavirus. A análise do gene *S* dos CoV mostrou que as amostras deste estudo formaram uma linhagem única, segregadas das demais amostras de alphacoronavírus. Em relação aos rotavírus, foi possível a identificação de um genótipo G3-P[3]-IX-RX-CX-MX-AX-NX-T3-E3-H6, similar a encontrada em morcegos, equinos e humanos. Além disso, outra amostra foi classificada como G20, similar ao genótipo encontrado em humano, sendo que os genótipos encontrados para os genes VP4, NSP3 e NSP5 desse vírus podem ser classificados como novos genótipos. Os resultados obtidos mostram que esses animais podem carrear agentes infecciosos de importância na saúde pública, sendo que mais estudos são necessários para o esclarecimento do papel dos morcegos como reservatório e fonte de infecção destas zoonoses virais.

Palavras-chave: Coronavírus. Rotavírus. Zoonoses. Morcego.

ABSTRACT

ASANO, K. M. **Ocurrence and molecular characterization of coronavirus and group A rotavirus in chiropterans of São Paulo State.** [Ocorrência e caracterização molecular de coronavírus e rotavírus do grupo A em quirópteros do Estado de São Paulo.] 2015. 115 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Several viral emerging and re-emerging diseases have been described in bats. Environmental changes caused by humans associated with the adaptation of bats to urban areas increase the chance of transmission of these infectious diseases to humans and domestic animals. Coronaviruses studies associated with bats have shown that these hosts act as reservoirs for these viruses, while rotaviruses has been poorly studied in these hosts. This study aimed to determine the occurrence of Rotavirus and Coronavirus in several species of bats from São Paulo State, Brazil, and to perform phylogenetic inferences from Coronavirus RdRp and S genes, as well as from Rotavirus structural and non-structural proteins genes. To this end, RT-PCR followed by DNA sequencing was used. Optimization criterion of distance and identities calculation of the nucleotides and amino acids among the obtained sequences and sequences retrieved from the GenBank were used for phylogenetic and molecular diversity analysis. The occurrence of Coronavirus was 2.95% (9/305) and of Rotavirus was 9.18% (28/305). According to phylogenetic analysis of the RdRp gene, eight strains were classified as *Alphacoronavirus*. The analysis of the CoV S gene showed that the starins of this study formed a single lineage, segregated from other alphacoronaviruses lineages. Regarding Rotavirus, it was possible to identify the genotype G3-P [3] -IX-RX-CX-MX-AX-NX-T3-E3-H6, similar to that reported in bats, horses and humans. In addition, another strain was classified as G20, similar to the genotype described in humans, while the genotypes found for VP4, NSP3 and NSP5 genes may be classified as new genotypes. These results show that bats may carry infectious agents of public health interest, but further studies are necessary to clarify the role of these animals as reservoirs and infectious sources of these viral zoonoses.

Keywords: Coronavirus. Rotavirus. Zoonoses. Bat.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região parcial de 393 nucleotídeos do gene codificador da *RpRd* dos coronavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os com valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto..... 44
- Figura 2 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região parcial de 547 nucleotídeos do gene codificador da proteína S dos coronavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os com valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto..... 46
- Figura 3 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 835 nucleotídeos do gene codificador da proteína VP7 dos rotavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto 48
- Figura 4 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 774 nucleotídeos do gene codificador da proteína VP4 dos rotavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto 50

Figura 5 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 890 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP3 dos rotavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto 52

Figura 6 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para o fragmento de 701 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP4 dos rotavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto..... 54

Figura 7 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 640 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP5 dos rotavírus. Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto 56

Mapa 1 - Distribuição dos municípios do Estado de São Paulo que enviaram as amostras de quirópteros utilizados neste estudo 31

Gráfico 1 - Detecção de coronavírus e rotavírus nos diferentes meses do ano 42

Quadro 1 - Gene, quantidade de genótipos e origem da denominação destes.....	27
Quadro 2 - <i>Primers</i> utilizados para triagem de coronavírus e rotavírus do grupo A, tamanho do produto gerado em cada reação e referência	33
Quadro 3 - <i>Primers</i> utilizados para amplificação do gene S de coronavírus.....	34
Quadro 4 - Descrição dos <i>primers</i> utilizados para sequenciamento e genotipagem dos rotavírus: <i>primer</i> , sequência (5' → 3'); tamanho do produto (pb); referência utilizada	36
Quadro 5 - Informações sobre a espécie, data de recebimento do animal, origem, sexo, idade aproximada e resultado para raiva das positivas para coronavírus e rotavírus.....	40
Quadro 6 - Proporção de positivos para coronavírus e rotavírus em relação ao total de amostras testadas para cada espécie	41

LISTA DE APÊNDICE

Apêndice A - Informações sobre as espécies de quirópteros, local de origem, idade aproximada, sexo e contato com humanos	97
--	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Sequências do gene <i>RdRp</i> de coronavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	105
Anexo B - Sequências do gene <i>S</i> de coronavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	107
Anexo C – Sequências do gene VP7 de rotavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	109
Anexo D – Sequências do gene VP4 de rotavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	111
Anexo E – Sequências do gene NSP3 de rotavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	113
Anexo F – Sequências do gene NSP4 de rotavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	114
Anexo G – Sequências do gene NSP5 de rotavírus, recuperadas do <i>GenBank</i> , utilizadas para construção da árvore filogenética	115

LISTA DE ABREVIATURAS

ADP	Adenosina difosfato
BLAST	<i>Basic Local Aligment Search Tool</i>
BCoV	Coronavírus Bovino
CCoV	Coronavírus Canino
CoV	Coronavírus
DEPC	Dietilpirocarbonato
FIPV	Vírus da Peritonite Infecciosa Felina
HCoV	Coronavírus Humano
IBV	Vírus da Bronquite Infecciosa das Galinhas
ICTV	<i>International Committe on Taxonomy of Viruses</i>
MEGA	<i>Molecular Evolutionary Genetics Analysis</i>
MERS	<i>Middle East Respiratory Syndrome</i>
MHV	Vírus da Hepatite Murina
NCDV	<i>Nebraska Calf Diarrhea Virus</i>
NSP	Proteína Não Estrutural
nt	Nucleotídeo
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
pb	pares de base
PEDV	Vírus da Diarreia Epidêmica dos Suínos
pp	poliproteína
RdRp	RNA polimerase RNA dependente
RV	Rotavírus
SARS	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>
TGEV	Vírus da Gastroenterite Transmissível
VP	Proteína Estrutural

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
2	OBJETIVOS	29
3	MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1	AMOSTRAS DE REFERÊNCIA	30
3.2	AMOSTRAS DE CAMPO	30
3.3	PREPARO DAS AMOSTRAS E EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL	31
3.4	RT-PCR PARA TRIAGEM DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS	32
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	33
3.6	AMPLIFICAÇÃO DO GENE S DE CORONAVÍRUS	34
3.7	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ROTAVÍRUS	35
3.8	SEQUENCIAMENTO DOS FRAGMENTOS GERADOS	36
3.9	ANÁLISE FILOGENÉTICA E DA DIVERSIDADE MOLECULAR DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS	38
4	RESULTADOS	39
4.1	OCORRÊNCIA DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS	39
4.2	ANÁLISE DOS RESULTADOS	42
4.3	ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE <i>RDRP</i> DE CORONAVÍRUS	42
4.4	ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE S DE CORONAVÍRUS	45
4.5	CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ROTAVÍRUS DO GRUPO A	47
4.5.1	Gene codificador da proteína VP7	47
4.5.2	Gene codificador da proteína VP4	49
4.5.3	Gene codificador da proteína NSP3	51
4.5.4	Gene codificador da proteína NSP4	53
4.5.5	Gene codificador da proteína NSP5	55
5	DISCUSSÃO	57
6	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS	69
	APÊNDICE	97
	ANEXO	105

1 INTRODUÇÃO

Os morcegos pertencem à ordem *Chiroptera*, a segunda mais diversa dentre a classe *Mammalia*, com mais de 1.200 espécies existentes, o que representa aproximadamente um quarto de toda a diversidade de mamíferos do mundo (SIMMONS, 2005). Essa ordem apresenta distribuição mundial, ausente somente nas regiões polares e algumas ilhas oceânicas isoladas e, embora possam ser encontrados em regiões de clima temperado, habitam principalmente as regiões tropicais e subtropicais. Esses animais possuem vida longa e vivem em colônias de tamanhos diversos, de poucos indivíduos a milhares, dependendo da espécie, sendo raramente solitários (NOWAK, 1999).

Atualmente, a ordem *Chiroptera* é subdividida em duas subordens: *Yangochiroptera* e *Yinpterochiroptera*. A superfamília *Rhinolophoidea* (composta pelas famílias *Rhinolophidae*, *Hipposideridae*, *Megadermatidae*, *Craseonycteridae* e *Rhinopomatidae*) e as raposas voadoras que compreendem a família *Pteropodidae* são agrupadas na subordem *Yinpterochiroptera*. As demais 12 famílias estão inseridas na subordem *Yangochiroptera* e são elas: *Emballonuroidea* (*Emballonuridae* e *Nycteridae*); *Noctilionoidea* (*Phyllostomidae*, *Noctilionidae*, *Mormoopidae*, *Thyropteridae*, *Furipteridae*, *Mystacinidae* e *Myzopodidae*) e *Vespertilionoidea* (*Vespertilionidae*, *Molossidae* e *Natalidae*) (JONES; TEELING, 2006).

Embora os morcegos tenham grande importância ecológica, sendo considerados importantes controladores de insetos, dispersores de sementes, além de atuarem como agentes polinizadores das plantas (KUNZ et al., 2011), esses animais também são considerados hospedeiros únicos de diversas viroses emergentes e re-emergentes (WONG et al., 2010; (WANG; WALKER; POON, 2011).

A primeira associação dos morcegos como reservatórios de zoonoses virais foi sugerida por Carini (1911), que sugeriu a transmissão da raiva para herbívoros através da mordida do morcego hematófago. Essa suspeita foi então provada alguns anos depois quando corpúsculos de Negri foram identificados pela primeira vez em um morcego hematófago (HAUPT; REHAAG, 1925) e desde então os morcegos são considerados reservatórios de raiva e de outras lissaviroses.

Os estudos relacionados aos vírus em morcegos ganharam notoriedade no final do século XX, após a descoberta do papel dos morcegos como reservatórios de vírus que causam

doenças graves em humanos, como os vírus Hendra (HALPIN et al., 2000), Nipah (CHUA et al., 2002); coronavírus relacionados à SARS (do inglês – *Severe Acute Respiratory Syndrome*) (LI et al., 2005), Ebola (LEROY et al., 2005); Marbug (TOWNER et al., 2007). Além disso, outro fator que aumentou a detecção de novos vírus em morcegos é a disponibilidade de novas tecnologias diagnósticas através de técnicas de biologia molecular, incluindo a PCR e o sequenciamento de nova geração, que tem sido usada para caracterizar viromas de morcegos (DONALDSON et al., 2010; DREXLER et al., 2012; WU et al., 2012; DACHEUX et al., 2014)

Olival et al. (2012) descreveu a identificação de 15 famílias de vírus, sendo 10 de vírus RNA (*Arenaviridae*, *Bunyaviridae*, *Coronaviridae*, *Filoviridae*, *Flaviviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae* e *Togaviridae*) e 5 de vírus DNA (*Adenoviridae*, *Herpesviridae*, *Papillomaviridae*, *Parvoviridae* e *Polyomaviridae*) em 75 gêneros de morcegos. Além dessas famílias, recentemente foram identificadas mais duas família de vírus RNA, *Astroviridae* (XIAO et al., 2011) e *Hepeviridae* (DREXLER et al., 2012); e duas de vírus DNA, *Hepadnaviridae* (DREXLER et al., 2013) e *Circoviridae* (GE et al., 2011).

Os quirópteros reúnem diversas características que podem explicar o motivo pelo qual são considerados reservatórios únicos. A análise genética dos morcegos sugere que a origem desses animais data do período Eoceno, há cerca de 50 milhões de anos atrás (TEELING et al., 2005). Especula-se que os vírus tenham co-evoluído ou se adaptado aos morcegos durante milhões de anos (WANG; WALKER; POON, 2011; WYNNE; WANG, 2013), porém os mecanismos pelos quais os morcegos são capazes de manter os vírus de forma assintomática ainda não foram esclarecidos.

O estudo dos genomas de duas espécies de morcegos (*Pteropus alecto* e *Myotis davidii*) sugere que a capacidade de voo evoluiu concomitantemente com alterações genéticas do sistema imune inato, devido à necessidade da reparação aos danos no DNA pela elevada taxa metabólica que ocorre durante o voo (ZHANG et al., 2013). O'Shea et al. (2014) sugerem que o voo, um fator comum entre todos os morcegos, mas não a outros mamíferos, promove uma força seletiva para a coexistência com agentes virais através da elevação do metabolismo e da temperatura corporal, analogamente a resposta febril nos outros mamíferos.

Além disso, esses animais apresentam uma expectativa de vida extremamente longa para mamíferos de tamanho tão pequeno, podendo viver 20-30 anos (AUSTAD, 2005), com longevidade descrita de até 41 anos para morcegos da espécie *Myotis brandtii* (PODLUTSKY et al., 2005). A longa expectativa de vida desses animais aumenta a possibilidade do

desenvolvimento de infecções persistentes, que predispõem a manutenção e transmissão de vírus para outros vertebrados (CALISHER et al., 2006).

Apesar de alguns mamíferos conseguirem planar a longas distâncias, os morcegos são os únicos que apresentam estruturas especializadas que permitem um voo verdadeiro (NOWAK, 1999). Os morcegos hematófagos geralmente voam em busca de alimento em uma área de 5 a 8 km do seu abrigo (CRESPO et al., 1961), porém em certas regiões esta distância pode aumentar para 15 a 20 km (MÁLAGA-ALBA, 1954). Algumas espécies de morcegos voam por longas distâncias durante a migração, como o caso do *Tadarida brasiliensis mexicana*, que pode se deslocar por 800 a 1.800 km (GLASS, 1982), podendo disseminar agentes patogênicos por um vasto território.

Algumas espécies, como o *Desmodus rotundus*, apresentam interações frequentes que podem incluir a higiene corporal através de lambeduras entre os indivíduos e o compartilhamento do sangue como refeição (WILKINSON, 1986). Essa espécie vive em colônias relativamente pequenas com aproximadamente 10 a 50 indivíduos; porém agrupamentos com 100 ou mais morcegos podem ocorrer, principalmente onde o controle de suas populações não é feito com regularidade (UIEDA et al., 1996). Outras espécies, como o *Tadarida brasiliensis*, vivem em colônias extremamente numerosas, podendo chegar a cerca de 790.000 indivíduos em uma única caverna (HRISTOV et al., 2010). O comportamento social e a formação de colônias com elevada densidade populacional são fatores que aumentam a chance de transmissão intra e interespecie de infecções virais (CALISHER et al., 2006).

Além disso, as alterações ambientais causadas pelo homem têm promovido um grande impacto na ecologia, influenciando a movimentação de diversas espécies de animais silvestres do seu habitat natural para áreas urbanas ou rurais (MAGLE et al., 2012), aumentando as chances do contato dos humanos e animais domésticos com animais silvestres. Consequentemente, diversos problemas estão surgindo, principalmente em relação à disseminação de zoonoses virais (SHI, 2010).

A coronavirose ganhou particular notoriedade após o aparecimento da SARS em 2002, na qual foi detectado um coronavírus, denominado SARS-CoV, como agente causador da doença (KUIKEN et al., 2003; PEIRIS et al., 2003). Esta epidemia gerou o aparecimento de teorias da capacidade da transmissão e adaptação interespecie dos coronavírus (WEISS; NAVAS-MARTIN, 2005). A detecção de um vírus semelhante à SARS-CoV em pequenos mamíferos, como o *Paguma larvata*, inicialmente sugeriu que essa fosse a fonte de infecção (GUAN et al., 2003). Contudo, em 2005 foram isolados de morcegos, coronavírus

relacionados à SARS e ao coronavírus isolado de *P. larvata*, evidenciando que os morcegos poderiam atuar como reservatório natural de um vírus ancestral do SARS-CoV (LI et al., 2005).

Após 10 anos, em 2012, surgiu a MERS (do inglês – *Middle East Respiratory Syndrome*), causada por um novo *Betacoronavirus*, mais relacionado aos coronavírus de morcegos HKU4 e HKU5 (ZAKI et al., 2012). Embora o reservatório natural do MERS-CoV ainda não tenha sido identificado, a elevada similaridade com sequências de coronavírus de morcegos sugere que a origem se encontre no morcego (MEMISH et al., 2013). Além disso, a alta prevalência de soropositividade (REUSKEN et al., 2013) em dromedário adicionado ao isolamento do vírus deste animal (RAJ et al., 2014) sugere que estes atuem como hospedeiros intermediários. Recentemente foi descrita a transmissão de dromedário-humano na Arábia Saudita (AZHAR et al., 2014).

Woo et al. (2009a) evidenciaram que os coronavírus de morcegos são portadores um conjunto de genes dos *Alphacoronavírus* e *Betacoronavírus*. Estes autores sugerem ainda que os coronavírus das aves apresentam o grupo genético dos *Gamacoronavírus*, e que o ancestral de todos esses vírus estava presente em um morcego e foi transmitido para uma ave, ou vice-versa. Este fenômeno ocorre em virtude da habilidade dessas espécies (morcegos e aves) de migrar por longas distâncias, permitindo a troca do material genético dos vírus entre hospedeiros de diferentes espécies. Isto predispõe a enorme diversidade de coronavírus em morcegos e aves, assim como, a disseminação deste agente viral para outras espécies de animais.

Os coronavírus são capazes de infectar uma grande variedade de hospedeiros, causando doenças respiratórias, entéricas, hepáticas e do sistema nervoso. Como resultado do seu mecanismo de replicação viral, as coronaviroses possuem uma elevada frequência de recombinação, permitindo a adaptação dos vírus a novos hospedeiros (LAI; PERLMAN; ANDRESON, 2007; WOO et al., 2009a).

Segundo o Comitê Internacional para Taxonomia Viral (ICTV, 2013), os coronavírus pertencem à ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae* e são divididos em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus*. Os grupos *Alpha* e *Betacoronavirus* são frequentemente encontrados em mamíferos, enquanto os *Gammacoronavirus* em aves. O gênero *Deltacoronavirus* foi identificado em aves e suínos (WOO et al., 2009b, 2012).

Os coronavírus são agentes envelopados, pleomórficos e seu genoma viral consiste em um RNA linear que varia de 26 e 32 kb, não segmentado, de sentido positivo, associado à

fosfoproteína estrutural N, formando um nucleocapsídeo de simetria helicoidal (HOLMES; LAI, 1996; LAI; PERLMAN; ANDRESON, 2007; PERLMAN; NETLAND, 2009). O envelope é formado por uma dupla camada de lipídeos, de onde se projetam as proteínas estruturais, incluindo a proteína de espícula (S), a proteína de membrana (M) e a proteína de envelope (E). Adicionalmente, alguns coronavírus também apresentam a hemaglutinina esterase (HE) (MASTERS, 2006).

O genoma do vírion é composto de no mínimo seis *open reading frames* (ORF). A primeira compreende dois terços do genoma e codifica diversas proteínas envolvidas na replicação, enquanto que o último terço contém as proteínas estruturais do genoma na seguinte ordem: (HE)-S-E-M-N (PERLMAN; NETLAND, 2009).

A ORF 1 dos coronavírus possui mais de 20.000 nucleotídeos, inicialmente codificam para as poliproteínas pp 1a e pp 1b que são clivadas em até 16 proteínas: NSP1 a NSP16. Esse complexo apresenta atividades de protease, polimerase, helicase, ADP-ribose-1'-fosfatase e RNase, sendo essencial na transcrição e replicação do RNA viral (ZIEBUHR; SNIJDER, 2007).

A *RdRp* (RNA polimerase RNA dependente), também denominada NSP12, é uma proteína de 100 KDa, a mais conservada dos coronavírus (SUBISSI et al., 2014) que forma um complexo de replicação viral em conjunto com outras proteínas celulares e virais (BROCKWAY et al., 2003; SHI et al., 1999). A função exercida por essa proteína é essencial na replicação e transcrição do RNA (SAWICKI et al., 2005), pois além de replicar grandes moléculas de RNA (de até 32 kb) também transcreve o conjunto de RNAm subgenômico, que posteriormente será traduzido para as proteínas estruturais e acessórias (PASTERNAK; SPAAN; SNIJDER, 2006). Logo, o gene que codifica a *RdRp* é bastante conservado ente os coronavírus (BROCKWAY et al., 2003), incluindo o SARS-CoV (MARRA et al., 2003) sendo por esse motivo, um dos alvos mais utilizados em estudos de detecção que usam como ferramenta a RT-PCR. Por isso foram descritos diversos primers capazes de detectar todos os gêneros de coronavírus utilizando como alvo a *RdRp* (MOËS et al., 2005; STEPHENSEN; CASEBOLT; GANGOPADHYAY, 1999; VIJGEN et al., 2008; WOO et al., 2006; CHU et al., 2011).

A glicoproteína HE, com cerca de 65 KDa, está presente somente em algumas espécies virais do gênero *Betacoronavirus* (HOLMES; LAI, 1996; MASTERS, 2006; LAI; PERLMAN; ANDRESON, 2007) e acredita-se que tenha se originado da hemaglutinina do vírus da influenza (ZENG et al., 2008). Segundo Popova e Zhang (2002), a HE pode mediar a adsorção do vírion à membrana celular, mas a penetração do vírus requer a interação com a

proteína S. Porém, estudos recentes revelam que a HE pode ser a principal proteína de ligação ao receptor celular (LANGEREIS et al., 2010).

A proteína E tem aproximadamente 10 KDa, é o menor componente do envelope viral e embora sua função não esteja bem definida, acredita-se que desempenha um papel importante na montagem e liberação do vírus (ORTEGO et al., 2007).

A proteína N é uma fosfoproteína conservada, de 50 a 60 KDa, que interage com o RNA formando um nucleocapsídeo de simetria helicoidal (HOLMES; LAI, 1996; MASTERS, 2006; LAI; PERLMAN; ANDRESON, 2007). Essa proteína interage com a M, conduzindo a incorporação do nucleocapsídeo dentro de partículas virais (KUO; MASTERS, 2002).

A proteína S é a principal proteína estrutural do envelope, pois é o principal alvo de anticorpos neutralizantes e está envolvida diretamente com a interação do vírus e os receptores celulares (GÉLINAS et al., 2001), apresentando como decorrência da pressão seletiva, um elevado polimorfismo (CAVANAGH, 1995). Esta proteína oligomérica apresenta 180 kDa (BOSCH et al., 2003), formando projeções de cerca de 20 nm de comprimento responsáveis pela aparência espiculada do vírion (COLLINS et al., 1982). Em algumas espécies virais, a proteína S é clivada em duas subunidades: S1 e S2 (CAVANAGH, 1995; NAVAS-MARTIN; WEISS, 2003). Embora a proteína S da maioria dos *Alphacoronavirus* não seja clivada em nenhum momento do ciclo de replicação do vírus, esta proteína também induz a fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira, e algumas vezes, a fusão de duas células (BELOUZARD et al., 2012).

A porção S1 possui dois domínios independentes, um domínio N-terminal e um C-terminal, sendo que ambos podem funcionar como domínios de ligação a receptores (PENG et al., 2011; LI, 2012). Ainda, o ectodomínio S1 é a porção que possui a maioria dos epítomos neutralizantes, induzindo a resposta imune hospedeira podendo ser utilizada como subunidade de vacina contra a infecção por coronavírus (HE et al., 2005; DU et al., 2009)

Os coronavírus usam uma grande variedade de receptores, incluindo os receptores da enzima conversora de angiotensina usada pelo SARS-CoV (LI et al., 2003; HOFMANN et al., 2005) e HCoV-NL63; da aminopeptidase N usada pelo TGEV (DELMAS et al., 1992); dipeptidil 4 usado pelo MERS-CoV (RAJ et al., 2013); da molécula de adesão celular relacionada ao antígeno carcinoembrionário usado pelo MHV (WILLIAMS; JIANG; HOLMES, 1991) e receptores de ácidos siálicos pelo BCoV (SCHULTZE et al., 1991) e IBV (SCHULTZE; CAVANAGH; HERRLER, 1992). Essa diversidade de interações é o principal fator que determina a ampla variedade de hospedeiros e a transmissão interespecies (LI,

2013). Além disso, o tropismo do coronavírus por diferentes tecidos é, em grande parte, modulada pela proteína S causando diferentes padrões de doença (NAVAS et al., 2001).

O primeiro relato de coronavírus em morcego foi realizado por Poon et al. (2005) em morcegos da espécie *Miniopterus pusillus*. Desde então, diversos estudos têm identificado a presença do coronavírus na população de morcegos em diversas partes do mundo, sendo que até o momento foram detectados tanto *Alphacoronavirus* como *Betacoronavirus* (POON et al., 2005; WOO et al., 2006; GLOZA-RAUSCH et al., 2008; MISRA et al., 2009; TONG et al., 2009; OSBORNE et al., 2011; SHIRATO et al., 2012b; CORMAN et al., 2013; LELLI et al., 2013). Dentro desses dois gêneros, novas espécies virais obtidas de morcegos estão sendo determinadas, demonstrando a importância desses animais como reservatórios de coronavírus (DE GROOT et al., 2012).

No Brasil, o primeiro relato de coronavírus em morcego foi realizado por Brandão et al. (2008), no qual foi detectado *Betacoronavírus* em *Desmodus rotundus*. Após cinco anos, (LIMA et al., 2013) descreveram a presença de *Alphacoronavirus* em fezes de morcegos da família *Molossidae*. No mesmo ano mais quatro relatos de *Alphacoronavirus* foram realizados: dois em *Molossus rufus*, um em *M. currentium* e um em *M. molossus* (CORMAN et al., 2013; GÓES et al., 2013). Assim, no Brasil, os coronavírus foram identificados somente em duas famílias: *Phyllostomidae* e *Molossidae*.

Por sua vez, a rotavirose é uma zoonose que possui distribuição mundial (ACHA; SZYFRES, 2003) e constitui-se na maior causa de gastroenterite infecciosa em crianças e animais neonatos (ESTES; KAPIKIAN, 2007). É apontado com uma zoonose devido à demonstração da ocorrência de rearranjos entre os rotavírus humanos e animais (DE GRAZIA et al., 2007; MATTHIJNSSENS et al., 2008a; ABE et al., 2011; GRANT et al., 2011).

Os rotavírus pertencem ao gênero *Rotavirus*, subfamília *Sedoreovirinae*, família *Reoviridae* (ICTV, 2013). São vírus não envelopados, de simetria icosaédrica, com aproximadamente 75 nm de diâmetro (ESTES; KAPIKIAN, 2007). Apresentam um capsídeo protéico com 3 camadas, sendo a mais interna constituída pelas proteínas VP1, VP2 e VP3 (denominada “core”); a intermediária pela VP6, utilizada para a classificação em grupos ou espécies virais (MATTHIJNSSENS et al., 2012b) e as duas mais externas, compostas pela VP4 e VP7. As duas últimas estão envolvidas com a indução de anticorpos neutralizantes e seus genes relacionados com a caracterização das amostras em genótipos P (de protease-sensível) e G (de glicoproteína), respectivamente (MATTHIJNSSENS et al., 2008b).

O genoma dos rotavírus é um RNA de fita dupla (dsRNA) segmentado de sentido negativo, com aproximadamente 18.500 nucleotídeos, constituído por 11 segmentos. Os genes são monocitrônicos, isto é, cada gene codifica para uma proteína viral, com exceção do segmento 11, que codifica duas proteínas. Assim, os 11 segmentos codificam 12 proteínas, sendo as estruturais denominadas VP1-VP4, VP6 e VP7 e as não estruturais NSP1-NSP6 (ESTES; KAPIKIAN, 2007; DESSELBERGER, 2014).

Os segmentos 1, 2 e 3 possuem 3.300, 2.700 e 2.600 pb, respectivamente (DESSELBERGER, 2014) e codificam para as proteínas do core (VP1, VP2 e VP3). Além da função estrutural, essas proteínas possuem afinidade pelo RNA, sendo fundamentais no processo de transcrição e replicação do RNA (PATTON et al., 1997; ZENG et al., 1998; BOUDREAUX et al., 2013).

A proteína VP4 possui 86 KDa e é codificada pelo segmento 4, que possui cerca de 2.360 pb (DESSELBERGER, 2014). É uma das proteínas envolvidas na ligação ao receptor celular, sendo clivada pela tripsina, resultando na formação da VP5* e VP8*, aumentando a infectividade do vírus (CRAWFORD et al., 2001).

O quinto segmento genômico, que possui 1.581 pb, codifica para a proteína NSP1 que apresenta 58 KDa (DESSELBERGER, 2014). Essa proteína não estrutural é importante no ciclo de replicação, inibindo a resposta imune inata do hospedeiro, principalmente restringindo a secreção de interferon (FENG et al., 2009) e suprimindo a indução de apoptose durante os estágios iniciais da infecção (ARNOLD; PATTON, 2011).

A VP6 possui 44 KDa e é codificada pelo segmento 6, que apresenta 1.356 nucleotídeos (MATTHIJNSSENS et al., 2012b). É uma proteína dotada de caráter hidrofóbico com elevado potencial antigênico e imunogênico (GORZIGLIA et al., 1985). Ela está localizada na camada intermediária do vírus envolvendo o core, representa 51% do agente e exerce um papel estrutural fundamental devido à interação com as proteínas VP4 e VP7 do capsídeo externo, e a VP2 do core (ESTES; KAPIKIAN, 2007).

A NSP2 apresenta 36 KDa, sendo codificada pelo segmento 7, que possui 1.059 pb (DESSELBERGER, 2014). Especula-se que seja a principal reguladora na formação dos viroplamas, recrutando as proteínas virais para o viroplasma (FABBRETTI et al., 1999; VISKOVSKA et al., 2014). Além disso, outras funções foram descritas: liga-se ao RNA e desarranja a conformação em hélice deste ácido nucleico (TARAPOREWALA; PATTON, 2001); NTPase dependente de Mg^{2+} (TARAPOREWALA; CHEN; PATTON, 1999); RNA trifosfatase (VASQUEZ-DEL CARPIO et al., 2006); e atividades nucleosídeo difosfato quinase (KUMAR et al., 2007).

A NSP3 é uma proteína de 34 KDa, codificada pelo segmento 8, que possui 1.074 pb (DESSELBERGER, 2014). Têm a função de facilitar a tradução dos RNAm transcritos e suprimir a síntese de proteínas do hospedeiro (CHUNG; MCCRAE, 2011), além de prevenir a degradação do RNAm do vírion por nucleases celulares (DEO et al., 2002).

O segmento 9 possui 1.062 nucleotídeos e codifica a VP7, uma glicoproteína do capsídeo externo com 34 KDa (DESSELBERGER, 2014). Essa proteína forma a matriz do capsídeo, sendo responsável pela indução de anticorpos neutralizantes (ESTES; KAPIKIAN, 2007).

O segmento 10 possui 751 nucleotídeos e codifica para a proteína NSP4 que apresenta 20 KDa (DESSELBERGER, 2014). Essa proteína possui múltiplas funções na patogenia e replicação dos rotavírus (BALL et al., 1996; ZHANG et al., 1998). Atua como um receptor intracelular para partículas imaturas interagindo com proteínas do capsídeo durante a morfogênese viral (TAYLOR; O'BRIEN; YEAGER, 1996), atua como uma vioporina aumentando a concentração de cálcio intracelular (HYSER et al., 2010), altera a permeabilidade da membrana celular (NEWTON et al., 1997) e atua como uma enterotoxina viral (BALL et al., 1996; HORIE et al., 1999).

O segmento 11 possui aproximadamente 666 nucleotídeos e duas ORFs que codificam para as proteínas NSP5 e NSP6 (DESSELBERGER, 2014). O papel dessas duas proteínas ainda não foi muito bem estabelecido. A NSP5 atua em conjunto com a NSP2 na formação dos viroplasmas (FABBRETTI et al., 1999), embora sua função não esteja totalmente esclarecida, especula-se que esteja envolvida na replicação do genoma e na montagem viral (VISKOVSKA et al., 2014). Pouco se sabe sobre a NSP6: também é encontrada no viroplasma, porém é degradada em poucas horas após sua síntese (HU et al., 2012).

Os rotavírus são classificados dentro de três especificidades antigênicas: grupo, sub-grupo e sorotipo. Este critério permite a classificação de múltiplos grupos (ou sorogrupos) e a existência de múltiplos sorotipos dentro de cada sorogrupo (ESTES; KAPIKIAN, 2007).

Estudos utilizando técnicas sorológicas revelaram que os rotavírus possuem um antígeno comum, presente no capsídeo intermediário da partícula viral (VP6) que classificam os rotavírus sorologicamente (ESTES; KAPIKIAN, 2007). O ICTV (ICTV, 2013) reconhece cinco espécies sorologicamente definidas (RVA, RVB, RVC, RVD, RVE) e duas tentativas de espécies (RVF e RVG). Existe ainda a tentativa de atribuir uma nova espécie (RVH) de acordo com o estudo das sequências de aminoácidos e um determinado valor de corte para a proteína VP6 (MATTHIJNSSENS et al., 2012b). Os grupos A, B e C acometem a espécie humana e animal; enquanto que os demais têm sido identificados apenas em animais

(CIARLET; ESTES, 2002; SANTOS; HOSHINO, 2005). Dentre estes, os rotavírus do grupo A são os mais prevalentes em humanos e animais (SANTOS; HOSHINO, 2005; ESTES; KAPIKIAN, 2007).

Os antígenos de subgrupo são classificados também com base na proteína VP6 utilizando anticorpos monoclonais e têm sido utilizados como marcadores epidemiológicos para rotavírus do grupo A, dada a possibilidade de ajudar na diferenciação de amostras (MATTION; COHEN, ESTES, 1994).

O sorotipo do rotavírus é determinado pela reatividade do vírus frente a dois antígenos independentes e neutralizantes do capsídeo externo, o VP4 e o VP7. Assim, pode-se caracterizar o sorotipo mediado pela VP7, denominado sorotipo G, pois a VP7 é uma glicoproteína, e pela VP4, denominado sorotipo P, pois a VP4 é uma protease sensível (ESTES, KAPIKIAN, 2007).

Com o advento das técnicas moleculares, foi proposto um sistema de classificação baseado no genótipo (GENTSCH et al., 1992; DAS et al., 1994; GOUVEA; SANTOS; TIMENETSKY, 1994a, 1994b). Porém, a correlação entre genótipo e sorotipo P não foi claramente estabelecida tornando difícil a classificação e o seu entendimento, ao contrário do que ocorre para o genótipo e sorotipo G, onde há concordância na classificação (ESTES; KAPIKIAN, 2007). Recomenda-se que os genótipos de rotavírus sejam colocados entre colchetes na designação P (MATTHIJNSSENS et al., 2011a), onde não há concordância total entre sorotipos e genótipos. Até o momento foram descritos pelo menos 27 genótipos diferentes de G e 37 genótipos diferentes de P em humanos e animais (DESSELBERGER, 2014).

Recentemente, uma nova recomendação para classificação dos rotavírus do grupo A foi proposta por Matthijnssens et al. (2008b), que definiu diferentes genótipos com base na porcentagem de identidades dos nucleotídeos para todos os 11 segmentos genômicos. Este novo sistema de classificação baseia-se na análise comparativa da porcentagem de identidade da sequência completa de nucleotídeos da ORF com outras sequências de cepas padrões disponíveis no *Genbank*. Assim, a sequência de nucleotídeos da ORF de todos os segmentos genômicos de uma cepa de rotavírus deve ser preferencialmente obtida de forma inequívoca, permitindo classificá-la em um dos genótipos conhecidos ou em um novo genótipo de acordo com os valores de cortes determinados para cada gene.

A nova nomenclatura para comparação do genoma completo dos rotavirus foi considerada utilizando as seguintes notações: Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx usados para os genes das proteínas VP7-VP4-VP6-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-

NSP5/6, respectivamente (MATTHIJNSSENS et al., 2008b). O quadro 1 representa os genes, o ponto de corte e a quantidade de genótipos, já estabelecidos até o momento, dos rotavírus.

Quadro 1 - Gene, ponto de corte (percentual de identidade de nucleotídeos), quantidade e origem da denominação dos genótipos

Gene	Percentual de identidade de nt (ponto de corte)	Genótipos	Nome dos genótipos
VP7	80%	27G	<u>G</u> licosilada
VP4	80%	37P	<u>P</u> rotease-sensível
VP6	85%	18I	Capsídeo <u>I</u> ntermediário
VP1	83%	9R	<u>R</u> NA-dependente RNA-polimerase
VP2	84%	9C	Proteína interna (“ <u>C</u> ore”)
VP3	81%	8M	<u>M</u> etiltransferase
NSP1	79%	19A	Interferon <u>A</u> ntagonista
NSP2	85%	10N	<u>N</u> TPase
NSP3	85%	12T	Aumento da <u>T</u> radução
NSP4	85%	15E	<u>E</u> nterotoxina
NSP5	91%	11H	Fosfoproteína (“ <u>p</u> <u>H</u> osphoprotein”)

Fonte: (MATTHIJNSSENS et al., 2008b, 2011; DESSELBERGER, 2014)

A genotipagem através de técnicas moleculares tem sido amplamente empregada e são fundamentais para o entendimento da evolução e diversidade dos rotavírus. Podem ser encontradas mutações pontuais em todos os segmentos genômicos, que podem ocorrer esporadicamente ou podem ser acumulados sequencialmente (BLACKHALL; FUENTES; MAGNUSSON, 1996; ITURRIZA-GÓMARA et al., 2000; DE GRAZIA et al., 2014). A reestruturação gênica pode ocorrer em uma célula infectada por dois genótipos diferentes (ITURRIZA-GÓMARA et al., 2001). Esse mecanismo frequentemente está associada a transmissão zoonótica (STEYER et al., 2008; MATTHIJNSSENS et al., 2011b; LUCHS et al., 2012; COWLEY et al., 2013; LUCHS; TIMENETSKY, 2014). Outro mecanismo é o rearranjo, que se baseia nas alterações de regiões significativas em um segmento genômico, ocorrendo na forma de deleções, e mais frequentemente como duplicações (KOJIMA et al., 2000; SCHNEPF et al., 2008). A recombinação intragênica é menos comum, mas também pode ocorrer entre vírus do mesmo genótipo (PARRA et al., 2004).

É fundamental o conhecimento dos genótipos circulantes em animais e humanos tanto para a compreensão da evolução dos rotavírus como para a avaliação da eficácia das vacinas utilizadas (PARRA, 2009; JAIN; VASHISTT; CHANGOTRA, 2014). Em 2006, a vacina

contra rotavírus foi incluída no Plano Nacional de Imunização no Brasil, prevenindo a gastroenterite grave com redução significativa de hospitalização relacionada à diarreia (FERNANDES et al., 2014), contudo devido a possibilidade da emergência de novos genótipos relacionados à seleção vacinal, é essencial o monitoramento dos genótipos circulantes (JAIN; VASHISTT; CHANGOTRA, 2014).

Existem poucos trabalhos na literatura a respeito de rotavírus em morcegos. O primeiro relato foi realizado por Esona et al. (2010) em um morcego da espécie *Eidolon helvum*, capturado em Vihiga, no Kenya, demonstrando a presença de 7 genótipos únicos, classificando-o como genótipo G25-P[6]-I15-R8-C8-Mx-Ax-N8-T11-E2-H10. He et al. (2013) isolaram um rotavírus em morcego da espécie *Rhinolophus hipposideros*, em Yunnan, na China, classificado como genótipo G3-P[3]-I8-R3-C3-M3-A9-N3-T3-E3-H6, aparentado dos rotavírus humano e animal, provavelmente de origem canina/felina. Um estudo preliminar realizado em morcegos na França através da análise metagenômica revelou a presença do gene VP1 de rotavírus, porém sem a classificação de genótipos (DACHEUX et al., 2014). Mais recentemente, o rotavírus isolado de um morcego da espécie *Aselliscus stoliczkanus*, na China foi completamente classificado com o genótipo G3-P[10]-I8-R3-C3-M3-A9-N3-T3-E3-H6, demonstrando uma constelação de genótipo muito similar àquela descrita por He et al. (2013), exceto pelo genótipo do gene VP4 (XIA et al., 2014).

No Brasil, não existem dados de rotavírus em morcegos, porém Luchs e Timenesky (2013) descreveram um rotavírus relacionado geneticamente a rotavírus de bovino e morcegos, em índios do estado do Mato Grosso do Sul.

Assim, mais estudos relacionados aos rotavírus em morcegos devem ser realizados, visto que existe a possibilidade de recombinação genética de diferentes rotavírus e posterior transmissão para os humanos. Além disso, o papel dos morcegos como reservatórios de coronavírus também deve ser estudado.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve os seguintes objetivos:

Pesquisar a ocorrência de coronavírus e rotavírus do grupo A em amostras de conteúdo intestinal de diversas espécies de morcegos do Estado de São Paulo.

Realizar o sequenciamento parcial dos genes codificadores da RNA polimerase RNA dependente (*RdRp*) e da proteína de espícula (S) dos coronavírus detectados para elaboração de inferências filogenéticas.

Realizar a caracterização dos genótipos de rotavírus, com base no sequenciamento de genes de proteínas estruturais e não estruturais, e elaborar inferências filogenéticas a partir desses dados.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e a metodologia utilizados neste estudo estão descritos nos itens a seguir:

3.1 AMOSTRAS DE REFERÊNCIA

Como amostra de referência de coronavírus, foi utilizada a amostra Kakegawa (AKASHI et al., 1980) de coronavírus de bovino, mantida em cultura de células da linhagem HmLu (pulmão de hamster). Para rotavírus, foi utilizada a amostra NCDV de rotavírus bovino mantida em células da linhagem MA-104 (rim fetal de macaco verde). Como controle negativo foi utilizada água ultrapura tratada com 0,1% de dietilpirocarbonato (água DEPC).

3.2 AMOSTRAS DE CAMPO

Foram coletadas 305 (trezentas e cinco) amostras de conteúdo intestinal de 29 espécies de morcegos, pertencentes a três famílias (*Molossidae*, *Phyllostomidae* e *Vespertilionidae*), recebidos no período de 2013 a 2014 e pertencentes ao banco de amostras do Instituto Pasteur de São Paulo. Os quirópteros são provenientes de 73 municípios do Estado de São Paulo (Mapa 1). Todas as amostras fazem parte do programa de vigilância e controle da raiva no Estado de São Paulo e foram previamente testados para o vírus da raiva. Os resultados para raiva para cada amostra estão no apêndice A.

A classificação morfométrica das espécies de morcegos foi realizada por meio de chave de identificação segundo Vizotto e Taddei (1973) e Gregorin e Taddei (2002). Além da espécie também foram coletadas informações sobre o gênero e idade aproximada dos animais, sendo os animais classificados como filhote, jovem e adulto, de acordo com a presença ou não de pelagem, tamanho e fase de consolidação da articulação das asas. As informações sobre data de recebimento, gênero, espécie e local de origem de todas as amostras utilizadas estão descritas no apêndice A.

Mapa 1 - Distribuição dos municípios do Estado de São Paulo que enviaram as amostras de quirópteros utilizados neste estudo

Fonte: (ASANO, 2014)

3.3 PREPARO DAS AMOSTRAS E EXTRAÇÃO DE RNA TOTAL

Foram realizadas suspensões fecais a 20% (v/v) em água DEPC das amostras de conteúdo entérico, clarificadas por centrifugação a 12.000 x g por 30 minutos a 4°C, tomando-se 250 µL do sobrenadante para extração de RNA.

A extração de RNA total foi realizada com a utilização do reagente comercial TRIzol (Life Technologies®), de acordo com as instruções do fabricante, sendo que para cada extração, foram extraídos os controles positivos de coronavírus e rotavírus e a água DEPC como controle negativo.

3.4 RT-PCR PARA TRIAGEM DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS

Para a transcrição reversa, cada tubo contendo 3,5 µL de RNA foi desnaturado a 95°C durante 5 minutos e imediatamente imersos em gelo, a seguir foi adicionado uma combinação de reagentes contendo 1x First Strand Buffer® (*Life Technologies*®), 1mM de cada dNTP, 10mM DTT, 25 ng de primers randômicos e 100U de M-MLV *Reverse Transcriptase*® (*Life Technologies*®) para um volume final de 10µL, realizando-se a transcrição reversa a 37°C/60min.

A partir do cDNA foram realizadas duas reações em paralelo: uma nested RT-PCR para detecção de coronavírus e uma nested RT-PCR para detecção de rotavírus do grupo A.

Para detecção de coronavírus foi utilizada uma nested RT-PCR com *primers* dirigidos ao gene da *RdRp* (Quadro 2).

Para a primeira reação, 2,5 µL do cDNA foi adicionado à solução de *PCR mix*, composta por 1 x *PCR Buffer* (*Life Technologies*®), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada *primer* (RdRpS1 + RdRpR1), 1,5 mM de MgCl₂, 1,25 U de *Taq DNA Platinum Polymerase* (*Life Technologies*®), água tratada com DEPC q.s.p. 25 µL. A solução preparada foi submetida a 94°C/5 minutos para a desnaturação inicial da fita dupla de cDNA, seguida de 40 ciclos de 94°C/1 minuto, 48°C/1 minuto, 72°C/1 minuto; finalizando com 72°C/10 minutos para a extensão final. Para a segunda reação foram utilizadas as mesmas condições da primeira reação, porém com os *primers* RdRpS2 e RdRpR2, que amplificam um fragmento de 440pb.

Para detecção de rotavírus do Grupo A foram utilizados quatro *primers* dirigidos ao gene codificador da proteína NSP5 dos rotavírus (Quadro 2).

Para a primeira amplificação, 2,5 µL do cDNA foi adicionado à solução de *PCR mix*, composta por 1 x *PCR Buffer* (*Life Technologies*®), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada *primer* (P1 e P2), 1,5 mM de MgCl₂, 1,25 U de *Taq DNA Platinum Polymerase* (*Life Technologies*®), água tratada com DEPC q.s.p. 25 µL. A solução preparada foi submetida a 94°C/3 minutos para a desnaturação inicial da fita dupla de cDNA, seguida de 40 ciclos de 94°C/1 minuto, 60°C/1 minuto, 72°C/1 minuto, finalizando com 72°C/10 minutos.

Quadro 2 - *Primers* utilizados para triagem de coronavírus e rotavírus do grupo A, tamanho do produto gerado em cada reação e referência

Agente	Primer	Sequência do <i>primer</i> (5'→3')	Tamanho do produto (pb)	Referência
Coronavírus	RdRpS1 (senso)	GGKTGGGAYTAYCCKAARTG	602	Chu et al. (2011)
	RdRpR1 (antissenso)	TGYTGTSWRCARAAYTCRTG		
	RdRpS2 (senso)	GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA	440	Woo et al. (2006)
	RdRpR2 (Antissenso)	CCATCATCAGATAGAATCATCATA		
Rotavírus do grupo A	P1 (senso)	GGCTTTTAAAGCGCTACAGTGATGTCTCT	317	Salem et al. (2010)
	P2 (antissenso)	GGTCGTGATTGTGTTGATGAATCCATAGA		
	P3 (senso)	CTCAGCATTGACGTAACGAGTCTTC C	208	
	P4 (antissenso)	TGAGTGGATCGTTTGAAGCAGAATCAGA		

Para a segunda amplificação, 2,5 µL do produto da PCR foram adicionados a mesma combinação de reagente da PCR, porém com a utilização dos *primers* P3 e P4, sendo as amostras submetidas a 94°C/3 minutos para a desnaturação inicial da fita dupla de cDNA, seguida de 30 ciclos de 94°C/30 segundos, 60°C/30 segundos, 72°C/1 minuto, finalizando com 72°C/10 minutos para a extensão final. O produto amplificado foi de 208pb.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com a finalidade de determinar a presença ou não de associação da positividade de coronavírus e rotavírus, de acordo com idade, sexo dos animais e estação do ano, foi utilizado o teste qui-quadrado com nível de significância $\alpha = 0,05$, com o programa *Chi-Square calculator online*¹.

1 Disponível em: < <http://www.socscistatistics.com/tests/> >

3.6 AMPLIFICAÇÃO DO GENE S DE CORONAVÍRUS

As amostras que foram confirmadas como positivas para coronavírus pelo sequenciamento do gene *RdRp* tiveram seu RNA total extraído para o estudo do gene S de acordo com o descrito no item 3.3, sendo a síntese de cDNA realizada com a utilização da enzima *SuperScript® III Reverse Transcriptase* (Life Technologies®), seguindo-se as recomendações do fabricante.

Para o estudo do gene S foi utilizada uma hemi-nested RT-PCR, sendo que na primeira reação, 5,0 µL de cDNA foram adicionados à combinação de reagente contendo 1 x *PCR Buffer* (Life Technologies®), 0,2 mM de cada dNTP, 0,5 pmol/µL de cada *primer* (BatCoVS6 + BatCoVS2), 2,0 mM de MgCl₂, 1,5 U de *Taq DNA Platinum Polymerase* (Life Technologies®) e água tratada com DEPC q.s.p. 25 µL. A solução preparada foi submetida a 94°C/5 minutos para a desnaturação inicial da fita dupla de cDNA, seguida de 40 ciclos de 94°C/30 segundos, 48°C/30 segundos, 72°C/1 minuto; finalizando com 72°C/10 minutos para a extensão final. Para a segunda reação foram utilizadas as mesmas condições da primeira reação, porém com os *primers* BatCoVS1 e BatCoVS2, gerando um produto de 547 pb (Quadro 3).

Quadro 3 - Primers utilizados para amplificação do gene S de coronavírus

<i>Primer</i>	Sequência do <i>primer</i> (5'→3')	Tamanho do produto (pb)	Referência
BatCoVS6 (senso)	NSHRYKTATGTHTGYYAAYGGHAA	547	(SHIRATO et al., 2012b)
BatCoVS2 (antissenso)	DGAYTGBGAYTTDACACAYTCRTT		
BatCoVS1 (senso)	HTGTGYBCAGYAYTAYAAAYGGYAT		

As amostras que apresentaram banda na altura desejada foram submetidas ao sequenciamento nucleotídico como descrito no item 3.5.

3.7 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ROTAVÍRUS

Foram selecionadas dez amostras positivas na PCR e que obtiveram identidade com sequências de rotavírus quando submetidas ao BLAST/n. Essas amostras foram testadas para os seguintes genes: VP7 e VP4, VP6, NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, NSP5.

Das amostras, o RNA total foi novamente extraído, de acordo com o descrito no item 3.3, sendo a síntese de cDNA realizada com a utilização da enzima *SuperScript® III Reverse Transcriptase* (Life Technologies®), seguindo-se as recomendações do fabricante.

O protocolo da PCR consistiu em misturar 5,0 µL do respectivo cDNA à solução *PCR mix*, a qual foi composta por 1 x *PCR Buffer* (Life Technologies®), 0,2 mM de cada dNTP (Life Technologies®), 0,5 pmol/µL de cada *primer*, 1,5 mM de MgCl₂, 3 U de *Taq DNA Platinum Polymerase* (Life Technologies®), água tratada com DEPC q.s.p. 25 µL. As informações sobre os primers e suas referências estão descritas no quadro 4. As condições de ciclagem foram realizadas de acordo com o descrito nas referências utilizadas.

As amostras que apresentaram banda na altura desejada foram submetidas ao sequenciamento nucleotídico como descrito no item 3.8.

Quadro 4 - Descrição dos *primers* utilizados para sequenciamento e genotipagem dos rotavírus: *primer*, sequência (5' → 3'); tamanho do produto (pb); referência utilizada

Gene	Primer	Sequência (5' → 3')	Produto (pb)	Referência
VP7	Con3 (senso)	TGGCTTCGCTCATTTATAGACA	876	(GENTSCH et al., 1992)
	Con2 (antissenso)	ATTCGGACCATTATAACC		
VP4	SBeg9 (senso)	GGCTTTAAAAGAGAGAATTTC	933	(GOUVEA; SANTOS; TIMENETSKY, 1994a)
	VP7RV (antissenso)	TGGAARARRTGGTGGCA		(TONIETTI et al., 2013)
VP6	VP6F (senso)	GGCTTTTAAACGAAGTCTTC	1.355	(SHEN; BURKE; DESSELBERGER, 1994)
	VP6R (antissenso)	GGTCACATCCTCTCACTA		
NSP1	NSP1S (senso)	GTCTTGTKRAGCCATGG	1.527	(SILVA et al., 2014)
	NSP1AScomp (antissenso)	GGCGCTACTCTAGTGCAG		
	NSP1F	GGCTTTTTTTATGAAAAGTC	1.065	(HE et al., 2013)
	NSP1R	TTWTGCTRSCTAGGCGCTACTC		
NSP2	GEN-NSP2F (senso)	GGCTTTTAAAGCGTCTCAG	1.059	(MATTHIJNSSENS et al., 2006a)
	GEN-NSP2R (antissenso)	GGTCACATAAGCGCTTTC		
NSP3	NSP3S (senso)	GATGCTCAAGATGGAGTCTAC	1.007	(SILVA et al., 2014)
	NSP3AS (antissenso)	AGCTTTTAACTATTGTGCTCA		
NSP4	10BEG.16	TGTTCCGAGAGAGCGCGTG	724	(LEE et al., 2000)
	10END722.c	GACCATTCCTTCCATTAAC		
NSP5	GEN-NSP5R (senso)	GGCTTTTAAAGCGCTACAG	667	(MATTHIJNSSENS et al., 2006a)
	GEN-NSP5S (antissenso)	GGTCACAAAACGGGAGT		

3.8 SEQUENCIAMENTO DOS FRAGMENTOS GERADOS

Os fragmentos amplificados em cada reação do item 3.4, 3.5 e 3.6 foram submetidos à reação de sequenciamento de DNA bi-direcional para a confirmação de sua especificidade e para análise filogenética.

Os produtos desejados foram purificados utilizando-se o reagente *ExoSap-IT* (USB®) para amostras que apresentaram uma única banda ou o *kit Illustra FX Gel Extraction Kit* (GE Healthcare®) para amostras que apresentaram mais de uma banda, de acordo com as instruções do fabricante.

A reação de sequenciamento consistiu em dois diferentes tubos para cada amostra, contendo cada um deles 1,0 µL de *BigDye 3.1* (Life Technologies®), 1,5 µL de *5x Sequencing*

buffer (Life Technologies®), 5 pmol/ μL de primer senso ou antisenso e 7,0 μL do DNA alvo para uma reação final de 10 μL . As reações foram submetidas a 96°C por 1 minuto, seguida de 40 ciclos de 96°C por 15 segundos, 50°C por 15 segundos (ou 45°C por 15 segundos, dependendo da temperatura de hibridização do primer) e 60°C por 4 minutos, com rampa de 1°C por segundo em todas as etapas.

Após a reação de sequenciamento, foi realizada a precipitação do DNA com o protocolo de etanol-EDTA. As amostras foram adicionadas de 1 μL de EDTA 125 mM e 30 μL de etanol absoluto, seguindo-se homogeneização e incubação por 15 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, a solução foi centrifugada a 16.000 x g durante 30 minutos em temperatura ambiente e o sobrenadante foi removido por inversão. A seguir foram adicionados 70 μL de etanol a 70%. Após nova homogeneização seguida por centrifugação a 16.000 x g durante 45 minutos a 4°C, o sobrenadante foi removido por inversão e o *pellet* foi mantido a 95°C por 5 minutos para completa evaporação do etanol. Após a precipitação, as sequências foram obtidas em equipamento *ABI-3500 Genetic Analyser* (Life Technologies®).

Os cromatogramas gerados para cada uma das sequências senso e anti-senso de cada amostra foram submetidos ao aplicativo *Phredonline*² para avaliação da qualidade dos mesmos, sendo utilizadas as posições com índice *Phred* maior que 20. Os nucleotídeos com índices *Phred* menores ou iguais a 20 foram conferidos manualmente com o aplicativo *FichTV* v. 1.4.0 para buscas por erros de interpretação e discrepância entre cada uma das fitas sequenciadas.

A sequência consenso final de cada amostra foi obtida a partir das sequências senso e anti-senso de cada fragmento com o aplicativo *CAP-Contig* do programa *Bioedit* 7.0.9.0 (HALL, 1999), sendo a mesma submetida ao BLAST/n para a confirmação das identidades dos fragmentos amplificados.

2 Disponível em: <<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph/>>

3.9 ANÁLISE FILOGENÉTICA E DA DIVERSIDADE MOLECULAR DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS

Os fragmentos amplificados para as reações descritas nos itens 3.6 e 3.7 foram sequenciados e avaliados de acordo com o item 3.8. As sequências finais obtidas para cada gene foram alinhadas com sequências homólogas recuperadas do *GenBank*, utilizando-se o método CLUSTAL/W com o programa *Bioedit* 7.0.9 (HALL, 1999). As sequências recuperadas do *GenBank*, usadas para análise filogenética, para os genes *RdRp* e *S* de coronavírus encontram-se nos anexos A e B, respectivamente, e as usadas para as análises filogenéticas dos genes VP7, VP4, NSP3, NSP4 e NSP5, encontram-se nos anexos C, D, E, F e G, respectivamente.

Os alinhamentos foram utilizados para a construção das árvores filogenéticas com critério de otimização de distância, com algoritmo *Neighbor-Joining* e modelo evolutivo *Maximum Composite Likelihood* com 1.000 repetições de “*bootstrap*”, utilizando-se o programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2013).

As identidades de nucleotídeos e aminoácidos para os genes estudados foram calculados com o programa *Bioedit* v.7.0.9 (HALL, 1999).

4 RESULTADOS

Os resultados baseados na metodologia descrita anteriormente estão descritos nos itens a seguir.

4.1 OCORRÊNCIA DE CORONAVÍRUS E ROTAVÍRUS

Das 305 amostras de conteúdo fecal utilizadas neste estudo, foram detectadas nove (2,95%) amostras positivas para coronavírus e 28 (9,18%) amostras positivas para rotavírus do grupo A, sendo que em duas amostras foram identificados os dois agentes, e foi observada a co-infecção de raiva/coronavírus e raiva/rotavírus. O quadro 5 apresenta os dados obtidos das amostras positivas.

Das nove amostras positivas para coronavírus, oito foram sequenciadas e confirmadas como coronavírus pelo aplicativo BLAST/n. Das 28 amostras positivas para rotavírus, 23 foram sequenciadas e confirmadas como rotavírus do grupo A pelo BLAST/n.

Das 29 espécies testadas, cinco (17,2%) foram positivas para coronavírus, sendo que o gênero *Cynomops sp* se destacou, pois foi verificada uma positividade de 60% para *C. abrasus* e 27,3% em *C. planirostris*. O quadro 6 mostra a proporção de positivos para coronavírus e rotavírus em relação ao total das amostras testadas para cada espécie.

Para rotavírus, das 29 espécies, 12 (41,4%) foram positivas. Como pode ser observado no quadro 6, 33,3% das amostras de *Myotis albescens* e 24,2% das amostras de *Glossophaga soricina* foram positivas para rotavírus.

Foram observadas co-infecções em quatro animais. A amostra 4192/2013 de *Desmodus rotundus* apresentou infecção simultânea entre raiva e coronavírus; a amostra 4754/2013 de *Molossus molossus* de raiva e rotavírus e as amostras 2173/2014 e 2218/2014, ambas de *Cynomops planirostris*, de coronavírus e rotavírus (Quadro 5).

Quadro 5 - Informações sobre a espécie, data de recebimento do animal, origem, sexo, idade aproximada e resultado para raiva das positivas para coronavírus e rotavírus

Número	Espécie	Data de recebimento	Município de origem	Sexo	Idade aproximada	Raiva	CoV	RV
3081/13	<i>Glossophaga soricina</i>	19/06/2013	Espirito Santo do Pinhal	Macho	Adulto	N	N	P
3892/13	<i>Molossus rufus</i>	31/07/2013	Araraquara	Fêmea	Jovem	N	N	P
3921/13	<i>Artibeus lituratus</i>	31/07/2013	Cosmópolis	Fêmea	Adulta	N	N	P
3571/13	<i>Glossophaga soricina</i>	16/07/2013	Santos	Fêmea	Adulta	N	N	P
4122/13	<i>Molossus molossus</i>	07/08/2013	Sertãozinho	Macho	Jovem	N	N	P
4144/13	<i>Myotis albescens</i>	08/08/2013	Campinas	Fêmea	Jovem	N	N	P
4146/13	<i>Molossus molossus</i>	08/08/2013	Campinas	Macho	Jovem	N	N	P
4166/13	<i>Glossophaga soricina</i>	09/08/2013	Arujá	Macho	Adulto	N	N	P
4285/13	<i>Glossophaga soricina</i>	20/08/2013	Campinas	Fêmea	Adulta	N	N	P
4292/13	<i>Desmodus rotundus</i>	20/08/2013	Campinas	Fêmea	Jovem	P	P	N
4473/13	<i>Myotis nigricans</i>	29/08/2013	Ribeirão Pires	Fêmea	Adulta	N	N	P
4539/13	<i>Cynomops planirostris</i>	02/09/2013	Campinas	Macho	Jovem	N	P	N
4620/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem	N	P	N
4623/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto	N	N	P
4618/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem	N	N	P
4629/13	<i>Eumops glaucinus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem	N	N	P
4702/13	<i>Cynomops abrasus</i>	17/09/2013	Campinas	Macho	Jovem	N	P	N
4705/13	<i>Cynomops abrasus</i>	17/09/2013	Campinas	Fêmea	Adulta	N	P	N
4754/13	<i>Molossus molossus</i>	20/09/2013	Águas de Lindóia	Fêmea	Adulta	P	N	P
4763/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Adulta	N	P	N
4798/13	<i>Molossus molossus</i>	25/09/2013	Jaguariúna	Fêmea	Adulta	N	N	P
4817/13	<i>Eumops perotis</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta	N	N	P
4855/13	<i>Eptesicus sp</i>	26/09/2013	Sertãozinho	-	Filhote	N	N	P
4928/13	<i>Molossus rufus</i>	02/10/2013	Mogi das Cruzes	Macho	Jovem	N	N	P
4969/13	<i>Desmodus rotundus</i>	03/10/2013	Campinas	Macho	Adulto	N	N	P
5026/13	<i>Cynomops abrasus</i>	09/10/2013	Valinhos	Fêmea	Jovem	N	P	N
5165/13	<i>Glossophaga soricina</i>	23/10/2013	Caçapava	Fêmea	Adulta	N	N	P
5780/13	<i>Molossus molossus</i>	28/11/2013	Araraquara	Fêmea	Filhote	N	N	P
2173/14	<i>Cynomops planirostris</i>	25/06/2014	Ribeirão Preto	Macho	Jovem	N	P	P
2193/14	<i>Glossophaga soricina</i>	26/06/2014	Campinas	Macho	Adulto	N	N	P
2218/14	<i>Cynomops planirostris</i>	27/06/2014	Sumaré	Macho	Adulto	N	P	P
2266/14	<i>Glossophaga soricina</i>	02/07/2014	São Pedro	Fêmea	Adulta	N	N	P
2304/14	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	08/07/2014	Ribeirão Preto	Macho	Jovem	N	N	P
2391/14	<i>Desmodus rotundus</i>	15/07/2014	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta	N	N	P
2393/14	<i>Desmodus rotundus</i>	15/07/2014	Ribeirão Preto	Macho	Adulto	N	N	P

Fonte: (ASANO, 2014)

Nota: - dados não conhecidos.

Quadro 6 - Proporção de positivos para coronavírus e rotavírus em relação ao total de amostras testadas para cada espécie

Espécie	Positivos para CoV	Positivos para RV	Total de amostras testadas
<i>Anoura caudifer</i>	0	0	1
<i>Artibeus concolor</i>	0	0	1
<i>Artibeus lituratus</i>	0	1 (3,7%)	27
<i>Artibeus obscurus</i>	0	0	1
<i>Carollia perspicillata</i>	0	0	1
<i>Cynomops abrasus</i>	3 (60%)	0	5
<i>Cynomops planirostris</i>	3 (27,3%)	2 (18,2%)	11
<i>Desmodus rotundus</i>	1 (2,4%)	3 (7,3%)	41
<i>Diphylla ecaudata</i>	0	0	1
<i>Epitesicus diminutus</i>	0	0	1
<i>Epitesicus furinalis</i>	0	0	5
<i>Eumops glaucinus</i>	0	1 (3,8%)	26
<i>Eumops perotis</i>	0	1 (8,3%)	12
<i>Glossophaga soricina</i>	1 (3%)	8 (24,2%)	33
<i>Histiotus velatus</i>	0	0	4
<i>Lasiurus blossevillii</i>	0	0	7
<i>Lasiurus cinereus</i>	0	0	1
<i>Lasiurus ega</i>	0	0	1
<i>Molossus molossus</i>	0	6 (9,2%)	65
<i>Molossus rufus</i>	0	2 (12,5%)	16
<i>Myotis albescens</i>	0	1 (33,3)	3
<i>Myotis nigricans</i>	0	1 (11,1%)	9
<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	0	0	6
<i>Phyllostomus discolor</i>	0	0	3
<i>Phyllostomus hastatus</i>	0	0	1
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	1 (8,3%)	1 (8,3%)	12
<i>Pygoderma bilabiatum</i>	0	0	1
<i>Sturnira lilium</i>	0	0	1
<i>Tadarida brasiliensis</i>	0	0	1
Total = 29 espécies	9 (2,95%)	28 (9,18%)	305

Fonte: (ASANO, 2014)

A ocorrência de coronavírus foi verificada entre os meses de junho a outubro, enquanto que a presença de rotavírus foi observada entre os meses de junho a novembro. Não foi detectada a presença de coronavírus ou rotavírus entre os meses de dezembro e maio, como mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 - Detecção de coronavírus e rotavírus nos diferentes meses do ano

Fonte: (ASANO, 2014)

4.2 ANÁLISE DOS RESULTADOS

O teste chi-quadrado demonstrou não haver associação entre a detecção de coronavírus e o sexo ($p=0,869$), à idade ($0,0689$) ou à estação do ano ($p=0,363$). Também não houve associação entre a detecção de rotavírus e o sexo ($p=0,266$) ou à idade ($p=0,975$).

A única associação encontrada foi entre a detecção de rotavírus e às estações do ano ($X^2=17,28$; $p=0,0006$).

4.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE *RDRP* DE CORONAVÍRUS

Para a realização da análise filogenética do gene codificador da *RdRp* dos coronavírus foram obtidas oito sequências viáveis: 4292/2013/*Desmodus rotundus*; 4539/2013/*Cynomops planirostris*, 4620/2013/*Glossophaga soricina*, 4702/2013/*Cynomops abrasus*,

4705/2013/*Cynomops abrasus*, 5026/2013/*Cynomops abrasus*, 2173/2014/*Cynomops planirostris*, 2218/2014/*Cynomops planirostris*.

A árvore filogenética referente a um fragmento parcial de 393 nucleotídeos do gene codificador da *RdRp* dos coronavírus detectados no presente estudo juntamente com sequências representativas de cada grupo recuperadas do *Genbank* estão apresentadas na figura 1. Todas as amostras desse estudo se agruparam com as sequências de *Alphacoronavirus* utilizadas para construção da árvore filogenética. Seis amostras provenientes de morcegos da família *Molossidae* formaram um grupo único, mais relacionado ao grupo dos coronavírus de molossídeos detectados em Porto Alegre - RS. As duas amostras restantes, provenientes de morcegos da família *Phyllostomidae*, formaram um grupo juntamente com as amostras de filostomídeos de Trinidad e Tobago.

As amostras de molossídeos desse estudo apresentaram maiores identidades de nucleotídeos (variando de 81,4% a 82,9%) e aminoácidos (variando de 90,7% a 91,5%) com as amostras de molossídeos do sul do Brasil (números de acesso do *GenBank* KC110777 KC110781 KC110782).

As amostras dos filostomídeos desse estudo apresentaram maiores identidades de nucleotídeos (81,4% e 90,3%) e aminoácidos (95,3% e 98,4%) com a amostra 1CO7BA de *Glossophaga soricina* de Trinidad e Tobago (EU769558).

A identidade de nucleotídeos máxima encontrada entre as amostras desse estudo foi de 100% entre as amostras 4702/2013/ *Cynomops abrasus* x 4705/2013/ *Cynomops abrasus* e entre as amostras 4539/2013/ *Cynomops planirostris* x 5026/2013/ *Cynomops abrasus*.

Figura 1 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região parcial de 393 nucleotídeos do gene codificador da *RpRd* dos coronavírus

Fonte: (ASANO, 2014).

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os com valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto.

4.4 ANÁLISE FILOGENÉTICA DO GENE S DE CORONAVÍRUS

Para a confecção da análise filogenética do gene codificador da proteína S dos coronavírus foram obtidas duas sequências viáveis das amostras 4539/2013/*Cynomops planirostris* e 4705/2013/*Cynomops abrasus*.

A árvore filogenética referente ao fragmento parcial de 547 nucleotídeos do gene codificador da proteína S dos coronavírus detectados no presente estudo juntamente com sequências representativas de outras espécies de *Alphacoronavirus* recuperadas do *Genbank* estão apresentadas na figura 2. As duas amostras desse estudo formaram um grupo separado dos demais *Alphacoronavirus* utilizados para a construção da árvore.

A identidade de nucleotídeos e de aminoácidos entre as amostras desse estudo foram elevadas, 99,8% e 100%, respectivamente. Porém a identidade entre as sequências desse estudo com as sequências recuperadas do *GenBank* foram baixas.

A maior identidade de nucleotídeos encontrada para as amostras 4539/2013 e 4705/13 foi de apenas 65,6% e 65,8%, respectivamente, com uma amostra de coronavírus humano 229E (número de acesso do *GenBank* DQ243984). Em relação à identidade de aminoácidos, as amostras desse estudo apresentaram maior identidade (73,3%) com uma amostra de coronavírus de morcego do Quênia (número de acesso do *GenBank* HQ728480).

A menor identidade de nucleotídeos encontrada para as amostras 4539/2013 e 4705/2013 foi de 39,1% com a amostra HKU2 (número de acesso do *GenBank* EF203065).

Figura 2 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região parcial de 547 nucleotídeos do gene codificador da proteína S dos coronavírus

Fonte: (ASANO, 2014)

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os com valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto.

4.5 CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ROTAVÍRUS DO GRUPO A

Os primers utilizados para amplificação da VP6, NSP1 e NSP2 não permitiram a amplificação do fragmento desejado, portanto, não foi possível a análise filogenética para tais genes.

A análise filogenética e de diversidade molecular dos genes VP7, VP4, NSP3, NSP4 e NSP5 está descrita nos itens a seguir.

4.5.1 Gene codificador da proteína VP7

Foram obtidas duas sequências viáveis para a realização da análise filogenética do gene codificador da proteína VP7, uma de 896 nucleotídeos da amostra 4754/2013 e outra de 835 nucleotídeos da amostra 3081/2013. Portanto, foi utilizado um bloco de alinhamento referente ao fragmento de 835pb para construção da árvore filogenética.

Como pode ser observada na figura 3, a amostra 4754/2013 se agrupou com amostras de genótipo G3. Essa amostra apresentou maior identidade de nucleotídeos de 89,2% e de aminoácidos de 97,8% com a amostra MYAS33, genótipo G3, de morcego proveniente da China (número de acesso do *GenBank* KF649188). A mesma similaridade de aminoácidos foi encontrada com a amostra MSLH14 (número de acesso do *GenBank* KC960624), genótipo G3, proveniente de morcego da China (HE et al., 2013).

A amostra 3081/2013 se agrupou com a amostra ECU534 (número de acesso do *GenBank* EU805775), uma amostra de genótipo G20, de humano do Equador (SOLBERG et al., 2009), com um elevado valor de bootstrap. Essas amostras apresentaram elevados valores de identidade de nucleotídeos e aminoácidos, 87,6% e 97,8%, respectivamente.

Figura 3 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 835 nucleotídeos do gene codificador da proteína VP7 dos rotavírus

Fonte: (ASANO, 2014)

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto.

4.5.2 Gene codificador da proteína VP4

Foram obtidas duas sequências viáveis para a realização da análise filogenética do gene codificador da proteína VP4, uma de 774 nucleotídeos da amostra 4754/2013 e outra de 838 da amostra 3081/2013. Portanto, foi utilizado um bloco de 774 nucleotídeos para a análise.

Na figura 4 está apresentada a árvore filogenética referente ao fragmento de 774 nucleotídeos do gene codificador da proteína VP4 das duas sequências deste estudo juntamente com as sequências homólogas recuperadas do *GenBank*.

A amostra 4754/2013 se agrupou juntamente com as amostras de genótipo P3 (Figura 4). A maior identidade de nucleotídeos encontrada para a amostra 4754/2013 foi de 87,2% com a amostra CMH222 de humano (número de acesso do *GenBank* DQ288661), genótipo P3 da Tailândia (KHAMRIN et al., 2006). A identidade máxima de aminoácidos encontrada para a 4754/2013 foi de 96,1% com a amostra MSLH14 de morcego (número de acesso do *GenBank* KC960622), genótipo P3 proveniente da China (HE et al., 2013).

Em relação à amostra 3081/2013, a árvore filogenética (Figura 4) mostra uma proximidade com a amostra ECU534 de humano, genótipo P28 do Equador (SOLBERG et al., 2009), porém com valor de *bootstrap* baixo. A amostra 3081/2013 apresentou valores de identidades baixas quando comparadas com as sequências recuperadas do *GenBank*, sendo que a maior identidade de nucleotídeos foi de 69,2% com a amostra SG385 de *Petaurus breviceps* (número de acesso do *GenBank* AB823215), genótipo P36 proveniente do Japão. A maior identidade de aminoácidos encontrada para a amostra 3081/2013 foi de 71,3% com a amostra CMP48/08 de suíno, genótipo P[23] da Tailândia (OKITSU et al., 2011).

Figura 4 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 774 nucleotídeos do gene codificador da proteína VP4 dos rotavírus

Fonte: (ASANO, 2014).

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto.

4.5.3 Gene codificador da proteína NSP3

Foram obtidas duas sequências viáveis para a realização da análise filogenética do gene codificador da proteína NSP3, uma de 905 nucleotídeos da amostra 4754/2013 e uma de 890 nucleotídeos da amostra 3081/2013. Logo, foi utilizado um bloco de alinhamento de 890 nucleotídeos para análise filogenética.

A árvore filogenética referente da NSP3 está apresentada na figura 5, na qual se verifica que a amostra 4754/2013 encontra-se inserida no grupo das amostras de genótipo T3, suportada por um valor de “*bootstrap*” elevado. A identidade de nucleotídeos máxima da amostra 4754/2013 foi de 90,4% com a amostra E403 de equino (número de acesso do *GenBank* JF712585), uma amostra de genótipo T3 da Argentina (MATTHIJNSSENS et al., 2012a).

A amostra 3081/2013 encontra-se separada dos outros genótipos existentes (Figura 5), sendo que a maior identidade de nucleotídeos encontrada para essa amostra foi de 71,9% com a amostra Hun5 de humano da Hungria (número de acesso do *GenBank* EF554112), classificado como genótipo T6 (MATTHIJNSSENS et al., 2008a). Em relação à identidade de aminoácidos, foi encontrada maior identidade de 75,1% entre a mesma amostra Hun5 e a amostra T152 da Tailândia (número de acesso *GenBank* DQ146704), de genótipo T3.

A identidade de nucleotídeos e aminoácidos entre as amostras deste estudo foi de 70,6% e 73,7%, respectivamente.

Figura 5 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para a região de 890 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP3 dos rotavírus

Fonte: (ASANO, 2014)

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto

4.5.4 Gene codificador da proteína NSP4

Para caracterização molecular do gene codificador da NSP4 foi obtida apenas uma sequência viável de 701 nucleotídeos da amostra 4754/2013, com uma ORF de 528 nucleotídeos que codifica para uma proteína de 175 aminoácidos.

A árvore filogenética referente da NSP4 está apresentada na figura 6, na qual se verifica que a amostra 4754/2013 encontra-se agrupada juntamente com as amostras de genótipo E3.

A identidade de nucleotídeos máxima da amostra 4754/2013 foi de 92,2% com a amostra QUI-35-F5 de humano (número de acesso do *GenBank* KF185102), uma amostra de genótipo E3 do Brasil. A maior identidade de aminoácidos encontrada foi com a amostra de morcego *Rhinolophus hipposideros* MSLH14 (número de acesso do *GenBank* KF185102), genótipo E3 proveniente da China (HE et al., 2013).

Figura 6 - Árvore filogenética construída com o método *Neighbor-joining* e modelo de substituição *maximum composite likelihood* para o fragmento de 701 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP4 dos rotavírus

Fonte: (ASANO, 2014).

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto.

4.5.5 Gene codificador da proteína NSP5

Foram obtidas duas sequências viáveis para a realização da análise filogenética do gene codificador da proteína NSP5: de 640 nt da amostra 4754/2013 e de 666 nt da amostra 3081/2013.

A amostra 4754/2013 apresentou uma ORF de 597 nucleotídeos, codificando para uma proteína de 198 aminoácidos. Já a amostra 3081/2013 apresentou uma ORF de 618 nucleotídeos, que codifica para uma proteína de 205 aminoácidos.

A árvore filogenética referente à NSP5 está apresentada na figura 7, na qual se verifica que a amostra 4754/2013 encontra-se inserida no grupo das amostras de genótipo H6, suportada por um valor de “*bootstrap*” elevado.

A maior identidade de nucleotídeos encontrada para a amostra 4754/2013 foi de 94,9% com a amostra QUI-35-F5 de humano (número de acesso do *GenBank* KF185103), genótipo H6 do Brasil. Ainda em relação a amostra 4754/2013, a maior identidade de aminoácidos encontrada foi de 98,4% com a amostra MYAS33 de morcego (número de acesso do *GenBank* KF649186), um genótipo H6 proveniente da China.

Em relação a amostra 3081/2013, a maior identidade de nucleotídeos encontrada foi de 74,4% com a amostra RU172 de suíno (número de acesso do *GenBank* DQ204739), um genótipo H1 da China (GHOSH et al., 2006). A maior identidade de aminoácidos encontrada foi de 71,7% com a amostra Hun5 de humano (número de acesso do *GenBank* EF554114), genótipo H3 proveniente da Hungria (MATTHIJNSSENS et al., 2008a).

A identidade de nucleotídeos e aminoácidos entre as amostras deste estudo para o gene codificador da NSP5 foi de 73,3% e 70,2%, respectivamente.

Figura 7 - Árvore filogenética construída com o método Neighbor-joining e modelo de substituição maximum *composite likelihood* para a região de 640 nucleotídeos do gene codificador da proteína NSP5 dos rotavírus

Fonte: (ASANO, 2014)

Legenda: Os números em cada nó representam os valores de *bootstrap*, sendo mantidos somente os valores iguais ou superiores a 50%. A escala representa o número de substituições por sítios. As amostras deste estudo estão identificadas com um triângulo preto

5 DISCUSSÃO

As alterações ambientais causadas por seres humanos têm promovido um grande impacto na ecologia, influenciando a movimentação de diversas espécies de animais silvestres do seu habitat natural para áreas urbanas ou rurais (MAGLE et al., 2012), aumentando as chances do contato dos humanos e animais domésticos com animais silvestres. Consequentemente, diversos problemas estão surgindo, principalmente em relação à disseminação de zoonoses virais.

Pesquisas realizadas em diversos países acumulam evidências e comprovam a atuação dos quirópteros como reservatórios de zoonoses virais emergente e re-emergentes (CHUA et al., 2002; LEROY et al., 2005; LI et al., 2005; CALISHER et al., 2006; SCHNEIDER et al., 2009). No Brasil, os dados sobre a presença de doenças em morcegos e a sua importância na saúde pública, com exceção da raiva, são escassos.

Assim, este trabalho teve o objetivo de contribuir com o conhecimento de duas importantes viroses: a coronavirose e a rotavirose. Sendo que a primeira já é conhecida importante na população de morcegos e está distribuída no mundo todo (TANG et al., 2006; ; WOO et al., 2006; CARRINGTON et al., 2008; DOMINGUEZ et al., 2008; GLOZARAUSCH et al., 2008; TONG et al., 2009; AUGUST; MATHEWS; NUNN, 2012; CARRINGTON et al., 2008; SHIRATO et al., 2012b; ANTHONY et al., 2013; CORMAN et al., 2013; GÓES et al., 2013; LELLI et al., 2013), enquanto que a última ainda foi pouco explorada, apresentando duas descrições na China (HE et al., 2013; XIA et al., 2014), uma no Quênia (ESONA et al., 2010) e nenhuma no Brasil.

Neste estudo foram testadas amostras de conteúdo intestinal de 29 espécies de morcegos, pertencentes a três famílias (*Phyllostomidae*, *Molossidae* e *Vespertilionidae*), todas provenientes de diversos municípios do Estado de São Paulo, para detecção de coronavírus e rotavírus do grupo A.

A nested RT-PCR utilizada para detecção de coronavírus resultou na amplificação de do fragmento esperado em 2,95% (9/305) das amostras testadas, sendo que das 29 espécies testadas, cinco foram positivas: *Cynomops abrasus*, *Cynomops planirostris*, *Desmodus rotundus*, *Glossophaga soricina* e *Platyrrhinus lineatus*. Dessas amostras, somente a amostra do *P. lineatus* não foi confirmada pelo sequenciamento de DNA.

A frequência de ocorrência de coronavírus neste estudo foi concordante com trabalhos realizados por Corman et al. (2013) que encontraram 2,8% de positividade em estudo

realizado na Costa Rica, Panamá, Equador e Brasil, e por Anthony et al. (2013) que detectaram uma ocorrência de 5,3% em morcegos no México. Porém, essa frequência foi relativamente baixa quando comparada aos estudos realizados na China, Itália, Filipinas, América do Norte, Japão, Reino Unido e Alemanha, nos quais foram detectadas positivities de 12%, 10,1%, 55,8%, 17%, 73%, 23,2%, 9,8%, respectivamente (WOO et al., 2006; DOMINGUEZ et al., 2008; GLOZA-RAUSCH et al., 2008; WATANABE et al., 2010; AUGUST; MATHEWS; NUNN, 2012; SHIRATO et al., 2012b; LELLI et al., 2013).

A baixa detecção de coronavírus neste estudo pode estar associada à qualidade da conservação das amostras. Neste trabalho foram utilizadas amostras provenientes do programa de vigilância e controle da raiva, que são enviadas pelos municípios para diagnóstico da raiva. Portanto, não se pode garantir a adequada conservação das amostras até o recebimento pelo laboratório. Os trabalhos que obtiveram elevadas frequências de positividade realizaram a coleta a campo (WOO et al., 2006; DOMINGUEZ et al., 2008; WATANABE et al., 2010; AUGUST; MATHEWS; NUNN, 2012; SHIRATO et al., 2012b; LELLI et al., 2013;), garantindo uma boa conservação da amostra, fator importante para detecção de coronavírus.

Jung e Chae (2004) demonstraram que a demora na entrega da amostra ao laboratório, assim como a exposição à temperatura ambiental durante o transporte, podem acarretar em efeitos deletérios na identificação de PEDV e TGEV pela RT-PCR. Além disso, um trabalho realizado no Canadá testou amostras de morcegos capturados e amostras armazenadas provenientes do programa de vigilância da raiva detectando 9,7% de positividade nas amostras coletadas a campo e nenhum positivo do banco de amostras (MISRA et al., 2009), reforçando a possível interferência da má conservação da amostra na detecção de coronavírus.

Em relação às espécies detectadas positivas para coronavírus, embora já tenha sido descrito em morcegos da família *Molossidae* (CORMAN et al., 2013; GÓES et al., 2013; LIMA et al., 2013), este é o primeiro relato de coronavírus no gênero *Cynomops*. A espécie *Cynomops abrasus* ocorre desde o norte da América do Sul até a Argentina e Centro-Leste do Brasil, e o *Cynomops planirostris* desde o Panamá até a Argentina, sendo que no Brasil, ocorre da região Norte ao norte do Paraná. São morcegos insetívoros e formam pequenas colônias (FABIAN; GREGORIN, 2007).

A frequência de coronavírus por espécie mostra uma elevada frequência no gênero *Cynomops*, sendo de 60% (3/5) para *Cynomops abrasus* e (3/11) 27,3% para *Cynomops planirostris* (Quadro 6). Os três *Cynomops planirostris* que testaram positivos são provenientes de diferentes cidades do Estado de São Paulo: Campinas, Ribeirão Preto e

Sumaré. Já os *Cynomops abrasus* são provenientes de Campinas e Valinhos (Quadro 5). Esses dados mostram que, apesar deste ser o primeiro relato, essas espécies devem possuir um papel importante na manutenção dos coronavírus na população de morcegos no Estado de São Paulo.

Os trabalhos realizados por Góes et al. (2013) e Corman et al. (2013) identificaram *Alphacoronavirus* em três espécies de molossídeos: *M. currentium*, *M. molossus*, *M. rufus*. Dessas espécies, somente a *M. currentium* não foi testada; foram testadas 65 amostras de *M. molossus* e 16 de *M. rufus*, sendo que nenhuma delas foi positiva para coronavírus. Porém 9,2% dos *M. molossus* e 12,5% dos *M. rufus* foram positivos para rotavírus, indicando que essas espécies podem albergar diferentes tipos de vírus.

Também foram detectadas positivas para coronavírus duas espécies de filostomídeos: *Desmodus rotundus* e *Glossophaga soricina*.

A espécie *D. rotundus* ocorre somente no continente americano com distribuição do norte do México até o norte da Argentina (GREENHALL et al., 1983) e se alimenta exclusivamente de sangue. Por ser o principal reservatório da raiva dos herbívoros, causando grandes prejuízos econômicos para agropecuária, e por possuir um importante papel na transmissão da raiva em humanos (MAYEN, 2003; SCHNEIDER et al., 2009; SCHEFFER et al., 2014), é uma das espécies de quiróptero mais conhecidas e estudadas. Geralmente, formam colônias pequenas (10 a 50 indivíduos), porém, agrupamentos maiores, com 100 ou mais indivíduos, podem ocorrer em locais onde o controle não é feito com regularidade (UIEDA et al., 1996). Podem percorrer até 15 a 20 km em busca de alimento (MÁLAGA-ALBA, 1954). Embora a ocorrência de coronavírus já tenha sido realizada em nessa espécie (BRANDÃO et al., 2008), dos 41 *D. rotundus* testados, somente um (2,4%) foi positivo.

A espécie *G. soricina* é nectarívora e ocorre por toda região neotropical, desde o México até o norte da Argentina (SIMMONS, 2005). Essa espécie pode ser encontrada no meio rural e em áreas urbanas, onde, não raro, adentra residências (BREDT; UIEDA; PINTO, 2002). Em cavernas, suas colônias possuem cerca de 20 indivíduos, enquanto em áreas urbanas, cerca de 150; porém já foram encontrados aproximadamente 1.000 indivíduos em um prédio abandonado em São Paulo (PACHECO et al., 2010). A presença de *Alphacoronavirus* já foi descrita para essa espécie em Trinidad e Tobago (CARRINGTON et al., 2008).

Não foi verificada associação da ocorrência de coronavírus e sexo do animal ($p=0,869$), como já descrito por anteriormente (GLOZA-RAUSCH et al., 2008; OSBORNE et

al., 2011). Embora o gráfico 1 mostre a ocorrência somente em um período do ano, não foi verificada associação com as estações do ano ($p=0,363$).

No que concerne à distribuição de coronavírus de acordo com a idade, também não foi verificada associação ($p=0,0689$), resultado diferente do descrito por Osborne et al. (2011) e Gloza-Rausch et al. (2008). Essa diferença pode estar relacionada às condições de conservação das amostras como mencionado anteriormente ou à utilização de uma amostragem de conveniência, não representativa da população.

Não foi detectado coronavírus em morcegos da família *Vespertilionidae*, o que pode ser decorrente da pequena amostragem obtida para essa família (38 animais de um total de 305). Em diversas partes do mundo, a presença de coronavírus foi identificada em vespertilionídeos (TANG et al., 2006; GLOZA-RAUSCH et al., 2008; MISRA et al., 2009; DREXLER et al., 2010; OSBORNE et al., 2011; ANTHONY et al., 2013). Portanto, se faz necessária a realização de estudos com maior amostragem de vespertilionídeos para confirmar a ausência do vírus nessa família no Brasil.

A análise filogenética do fragmento parcial do gene que codifica a *RdRp* (Figura 1) mostra que os coronavírus detectados neste estudo se agruparam com os *Alphacoronavírus*, podendo, portanto, ser classificado como tal.

Verifica-se também que as amostras provenientes de morcegos do gênero *Cynomops*, pertencentes à família *Molossidae*, formaram um grupo único e segregado das demais sequências recuperadas do *GenBank*, sendo mais relacionados ao grupo formado por coronavírus detectados em molossídeos provenientes do Estado do Rio Grande do Sul, com os quais apresentaram maiores identidades de nucleotídeos (variando de 81,4% a 82,9%) e aminoácidos (variando de 90,7% a 91,5%).

A identidade de nucleotídeos máxima encontrada entre as amostras desse estudo foi de 100% entre as amostras 4702/2013/ *Cynomops abrasus* x 4705/2013/ *Cynomops abrasus* e entre as amostras 4539/2013/ *Cynomops planirostris* x 5026/2013/ *Cynomops abrasus*. Como pode ser observado no quadro 5, essas amostras vieram de locais próximos, sendo que as duas primeiras são de Campinas enquanto as duas últimas são de Campinas e Valinhos. É possível que o vírus encontrado mantenha-se em transmissão entre os morcegos dessas espécies nessa região. Porém, não se pode comprovar o fato, visto que as informações referentes aos abrigos desses animais e a região explorada pelos mesmos não estão disponíveis.

Já os coronavírus detectados em filostomídeos desse estudo formaram um grupo com a amostra de Trinidad e Tobago, proveniente de *Glossophaga soricina* (CARRINGTON et al., 2008). Embora separadas por um espaço geográfico grande, de mais de 4.000 km, a amostra

de *G. soricina* encontrada no Estado de São Paulo apresentou identidades de nucleotídeos e aminoácidos elevados quando comparadas a amostra de *G. soricina* de Trinidad e Tobago, sendo os valores 90,3% e 98,4%, respectivamente. Diferentemente de outras espécies nectarívoras, a espécie *G. soricina* não migra por longas distâncias (FLEMING; NUÑEZ; STERNBERG, 1993), sendo improvável que tenha ocorrido transmissão entre os indivíduos.

O conjunto de dados apresentados sugere que os coronavírus apresentam certa adaptação ao gênero do hospedeiro, fato já observado por outros autores. Corman et al. (2013) detectaram *alphacoronavirus* relacionados em *Carollia perpicillata* do Brasil e da Costa Rica, separados por cerca de 5.600 km de distância. Concordando com o fato, Drexler et al. (2010) identificaram coronavírus relacionados à SARS em diferentes espécies de morcegos do gênero *Rhinolophid* na Europa e na China, concluindo que existe uma associação entre o gênero do hospedeiro e o vírus.

A árvore filogenética realizada a partir do fragmento parcial do gene codificador da proteína S dos coronavírus (Figura 2), mostra que as amostras desse estudo formaram um grupo separado das sequências recuperadas do *GenBank*.

A identidade de nucleotídeos encontradas entre as sequências dos coronavírus detectados neste estudo e as sequências recuperadas do *GenBank* variaram entre 39,1% e 65,8%, o que demonstra a elevada variabilidade genética existente no gene S entre as amostras pertencentes ao gênero *Alphacoronavirus* e que explica a distância entre as amostras deste estudo e as amostras recuperadas do *GenBank*.

A falta de dados referente ao gene S dos coronavírus detectados na América Latina deve estar associada a segregação das amostras deste estudo em relação as sequências utilizadas para a geração da árvore filogenética. Embora seja um fragmento pequeno, de apenas 547 nucleotídeos, a árvore indica que as amostras deste estudo são únicas, formando um grupo totalmente separado das demais amostras. Contudo, o sequenciamento de fragmentos maiores é fundamental para a classificação e o entendimento da epidemiologia dos coronavírus.

Drexler et al. (2010) sugeriram uma classificação baseada em um fragmento de 816 nt do gene codificador da *RdRp*, porém a maioria dos trabalhos utiliza um fragmento de apenas 440 pb, o mesmo escolhido para a realização deste trabalho. Além disso, o ICTV determina que a classificação de espécies dentro dos gêneros de coronavírus seja baseada na análise da identidade de aminoácidos em sete domínios parciais ou completos de proteínas não estruturais presentes na ORF 1ab, com ponto de corte em 90% (DE GROOT et al., 2012).

A classificação das espécies de coronavírus é dificultada pelas particularidades desses vírus, pois são conhecidos por possuírem o maior genoma RNA entre os vírus (WOO et al., 2009a), e existe uma intensa variabilidade genética entre as diferentes espécies virais, particularmente no gene S (CAVANAGH, 1995) dificultando o desenho de primers específicos para a amplificação e sequenciamento dos genes. Além disso, a baixa concentração de RNA nas amostras de morcegos torna a geração de sequências longas demasiadamente fastidiosa e dependente de técnicas avançadas (PFEFFERLE et al., 2009).

Outro fator é a dificuldade do isolamento dos coronavírus de morcegos. Diversos trabalhos relatam a falha na tentativa de isolamento, mesmo utilizando uma ampla diversidade de linhagens celulares (TANG et al., 2006; GLOZA-RAUSCH et al., 2008; DREXLER et al., 2010; WATANABE et al., 2010). Mesmo utilizando linhagens de células derivadas de morcegos, o isolamento não é viável e, segundo Hoffmann et al. (2013), um dos possíveis fatores é a especificidade dos coronavírus com a espécie ou gênero do hospedeiro como já descrito por outros autores (GLOZA-RAUSCH et al., 2008; DREXLER et al., 2010; CORMAN et al., 2013), fato também observado neste estudo.

Em relação à ocorrência de rotavírus, foi detectada uma frequência de 9,18% nas amostras testadas, sendo que das 29 espécies, 12 espécies foram positivas pela nested RT-PCR: *Artibeus lituratus*, *Cynomops planirostris*, *Desmodus rotundus*, *Eptesicus sp*, *Eumops glaucinus*, *Eumops perotis*, *Glossophaga soricina*, *Molossus molossus*, *Molossus rufus*, *Myotis albescens*, *Myotis nigricans*, *Platyrrhinus lineatus*. Esse dado sugere que os rotavírus estão amplamente distribuídos nas diferentes espécies e famílias de quirópteros.

As maiores frequências de ocorrência de rotavírus foram para as espécies *Myotis albescens* e *Glossophaga soricina*.

A espécie *Myotis albescens* é insetívora e ocorre desde o sul do México até a Argentina e Uruguai (SIMMONS, 2005). Podem coabitar com diversas outras espécies (BIANCONI; PEDRO, 2007).

Por meio do teste chi-quadrado, verificou-se que não houve associação entre a presença de rotavírus com a idade ($p=0,975$) ou o sexo ($p=0,266$).

Assim como ocorreu com os coronavírus, a ocorrência de rotavírus foi detectada em um período específico, entre os meses de junho e novembro, sendo que neste caso houve associação entre a ocorrência da doença e a estação do ano ($p=0,001$), padrão sazonal similar ao observado em humanos (KALE; ANDREOZZI; NOBRE, 2004; GURGEL et al., 2014;).

Das amostras positivas para rotavírus, foram selecionadas 10 para a realização da caracterização genética dos genes VP4, VP7, VP6, NSP1, NSP2, NSP3, NSP4 e NSP5. As

amostras foram selecionadas de acordo com a quantidade de amostra disponível e com a intensidade da banda apresentada na RT-PCR de triagem, o que indica uma maior concentração de RNA viral na amostra. Dessas amostras selecionadas somente duas apresentaram *amplicons*. Assim, foi possível o sequenciamento dos genes VP7, VP4, NSP3, NSP4 e NSP5 da amostra 4754/2013, e dos genes VP7, VP4, NSP3 e NSP5 da amostra 3081/2013.

A amostra 4754/2013 é proveniente de uma fêmea, adulta, da espécie *Molossus molossus*, proveniente do município de Águas de Lindóia. Essa espécie está amplamente distribuída na região neotropical, ocorrendo desde a Flórida nos EUA até o norte da Argentina (FABIAN; GREGORIN, 2007); é bastante comum em ambientes urbanos, pois explora uma grande diversidade de abrigos em edificações (PACHECO et al., 2010). Pode formar colônias de cerca de 500 indivíduos e foi observada a coabitação com outras espécies como *Glossophaga soricina* e *Myotis nigricans* (ESBÉRARD, 2011). Observações realizadas no Nordeste e Sul do Brasil parecem indicar que essa espécie não realiza migrações (FABIAN; GREGORIN, 2007).

A amostra 3081/2013 é de um macho, adulto, da espécie *Glossophaga soricina*, proveniente do município de Espírito Santo do Pinhal. Algumas características dessa espécie foram citadas anteriormente.

A análise filogenética do gene codificador da proteína VP7 dos rotavírus (Figura 3) mostra que a amostra 4754/2013 se agrupou juntamente com as amostras de genótipo G3 de bovino, humano, morcego e equino. A maior identidade de nucleotídeos encontrada para essa amostra foi de 89,2% com a amostra MYAS33, um genótipo G3 identificado da China (HE et al., 2013). O ponto de corte para classificação desse genótipo (Quadro 1) é de 80%. A partir desses dados, pode-se classificar a amostra 4754/2013 como genótipo G3. Em relação a amostra 3081/2013 observa-se que na árvore filogenética se agrupou juntamente com uma amostra rara de genótipo G20, suportada por um valor de *bootstrap* de 100%, identificada somente em humano do Equador (SOLBERG et al., 2009), apresentando maior identidade de nucleotídeos com essa amostra, de 87%. Portanto, a amostra pode ser classificada como genótipo G20.

Em relação ao gene codificador da proteína VP4 (Figura 4), observa-se que a amostra 4754/2013 se agrupou com amostras de genótipo P[3] de humano e de morcego, sendo que a maior identidade de nucleotídeos encontrada foi de 87,2% com a amostra CMH222, genótipo P[3] da Tailândia (KHAMRIN et al., 2006). O ponto de corte para o gene VP4 é de 80% (Quadro 1), sendo a amostra 4754/2013 classificada como P[3]. A amostra 3081/2013 mostra

uma proximidade com a amostra P[28] do Equador (SOLBERG et al., 2009), porém com valor de *bootstrap* baixo. Além disso, essa amostra apresentou maior identidade de nucleotídeos de apenas 69,2% com uma amostra P[36] de *Petaurus breviceps* proveniente do Japão. A baixa identidade de nucleotídeos (menor de 80% para o gene VP4) indica a detecção de um novo genótipo P.

A análise do gene codificador da NSP3 (Figura 5) mostra uma proximidade da amostra 4754/3013 com amostras de humano, morcego e equino, todos pertencentes ao genótipo T3, sendo que a maior identidade de nucleotídeos encontrada foi de 90,4% com a amostra E403 de equino da Argentina (MATTHIJNSSENS et al., 2012a). Para o gene codificador da NSP3, o ponto de corte é de 85%, classificando a amostra 4754/2013 como genótipo T3. A amostra 3081/2013 apresenta-se separada dos demais genótipos na árvore filogenética (Figura 5) e a maior identidade encontrada foi de 71,9% com a amostra Hun5, genótipo T6, de humano da Hungria (MATTHIJNSSENS et al., 2008a). A baixa identidade de nucleotídeos somada a segregação da amostra 3081/2013 dos demais genótipos na árvore filogenética, indicam novamente a presença de um genótipo único para essa amostra.

Para a análise do gene codificador da proteína NSP4, foi obtida somente uma sequência da amostra 4754/2013 que se agrupou com amostras de genótipo E3 provenientes de morcego e humano (Figura 6). A maior identidade de nucleotídeos encontrada foi de 92,2% com a QUI-35-F5 de humano, genótipo E3 do Brasil, classificando a amostra 4754/2013 como E3.

Finalmente, para a análise do gene codificador da proteína NSP5, verificou-se que a amostra 4754/2013 agrupou-se com amostras de genótipo H6 de humano, morcego, felino, canino, símio, e morcegos (Figura 7), com maior identidade de nucleotídeos de 94,9% com a amostra QUI-35-F5 de humano, genótipo H6 do Brasil. Como a identidade apresentada é maior que o ponto de corte estabelecido de 91% (Quadro 1), classifica-se essa amostra como H6. Em relação a amostra 3081/2013, a árvore filogenética mostra que essa amostra apresenta-se segregada dos demais genótipos e a identidade de nucleotídeos máxima encontrada foi de 74,4% com a amostra RU172 de suíno, genótipo H1 da China (GHOSH et al., 2006). Esses dados sugerem que a amostra 3081/2013 apresenta um novo genótipo H.

Outro dado relevante encontrado aqui é que a sequência de aminoácidos da proteína NSP5 obtida da amostra 3081/2013 possui uma inserção de 7 aminoácidos quando comparada com a amostra 4754/2013 e a maioria das amostras depositadas no GenBank, sendo que a proteína completa possui 205 aminoácidos, ao invés dos 198 aa descritos na literatura (ESTES; KAPIKIAN, 2007). Essa proteína só não é maior do que a encontrada em morcego

do Quênia, que apresentou uma proteína de 209 aminoácidos (ESONA et al., 2010). Esses dados demonstram a variabilidade genética encontrada entre os diferentes genótipos e explica a dificuldade em se obter amplicons para a análise dos genes de rotavírus.

De acordo com a análise filogenética dos genes sequenciados e com a identidade de nucleotídeos encontrada pode-se inferir que a amostra 4754/2013 possui uma constelação de genótipos G3-P[3]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T3-E3-H6, similar a encontrada em morcego da espécie *Rhinolophus hipposideros*, na China (HE et al., 2013), em felino, canino, humano (MATTHIJNSSENS et al., 2011b), símio (MATTHIJNSSENS et al., 2010b) e mais recentemente em equino (MIÑO et al., 2013). Porém, não houve amplificação dos genes codificadores da VP6 e NSP1, o que sugere que essa amostra possua mutações na região de hidratação dos *primers* ou genótipos não conhecidos para esses genes.

A associação G3P[3] foi descrita em humanos pela primeira vez no Brasil em uma pesquisa realizada entre 1986 a 1992 no Estado de São Paulo (TIMENETSKY; SANTOS; GOUVEA, 1994), e recentemente no município de Guarulhos (LUCHS et al., 2012). Não é uma combinação comum em humanos, porém os casos são descritos em regiões geograficamente distantes: Israel (ABOUDY et al., 1988), EUA (GRANT et al., 2011), Tailândia (KHAMRIN et al., 2006), Itália (DE GRAZIA et al., 2007), Índia (BANERJEE et al., 2007) e Taiwan (WU et al., 2012a).

Baseado no fato de que a combinação G3P[3] não permanece circulante na população humana, Luchs et al. (2012) sugere que esse genótipo não possui aptidão para se estabelecer em humanos e como todas as infecções foram detectadas em crianças, a transmissão pode ocorrer pela interação entre crianças e animais domésticos, adicionado aos hábitos de higiene limitados, características da idade. Porém, as informações sobre rotavírus em animais domésticos são escassas, limitando as possibilidades de comprovação da transmissão entre as espécies. A detecção do genótipo G3P[3] em morcego, no Estado de São Paulo, contribui na epidemiologia das rotaviroses, adicionando mais uma possível espécie hospedeira, podendo atuar como fonte da infecção para humanos ou para os animais domésticos (cães e gatos).

As elevadas identidades de nucleotídeos entre a amostra 4754/2013 com amostras detectadas em humanos no Brasil para os genes codificadores na NSP4 e NSP5 sugerem que esses vírus possuam a mesma origem, podendo o morcego ter um papel na transmissão da doença para os humanos. Contudo, embora os morcegos atuem como reservatórios de diversas doenças de importância em saúde pública, os dados obtidos até o momento não esclarecem se esses animais são reservatórios ou apenas hospedeiros acidentais.

A análise dos genes de rotavírus obtidos da amostra 3081/2013, classifica-a como um G20, sendo identificados 3 genótipos únicos para os genes codificadores das proteínas VP4, NSP3 e NSP5, apresentando uma constelação G20-P[?]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T?-Ex-H?.

O genótipo G20 é um genótipo raro, descrito somente em humano no Equador (SOLBERG et al., 2009). A identificação desse genótipo em morcegos sugere a possibilidade do morcego atuar como reservatório do genótipo G20 no Equador. A espécie *Glossophaga soricina* parece ser um importante hospedeiro de rotavírus, já que neste trabalho foram encontradas oito positivos de um total de 33 amostras testadas. Esta espécie está amplamente distribuída na região neotropical e também ocorre no Equador (SIMMONS, 2005), sendo necessários mais estudos para o esclarecimento da origem desse genótipo.

Não foi possível a caracterização molecular dos genes codificadores das proteínas NSP1 e VP6, pois não houve amplificação para realização do sequenciamento.

O gene codificador da NSP1 possui uma grande diversidade entre amostras de diferentes espécies (DUNN; CROSS; GREENBERG, 1994; TANIGUCHI; URASAWA, 1995), podendo ser esse o motivo pelo qual não houve a amplificação, mesmo após algumas tentativas com a utilização de diferentes primers. Essa mesma dificuldade foi encontrada por ESONA et al. (2010) em relação a NSP1. Diferentemente, o gene da VP6 é mais conservado, e muitas vezes utilizado como alvo para detecção de rotavírus devido a presença de regiões conservadas (ESONA et al., 2010). Os primers usados neste trabalho para a amplificação do gene codificador da VP6 são extensamente utilizados para amplificação do gene completo para rotavírus isolados em diversas espécies, sendo inclusive utilizado para o sequenciamento de rotavírus de morcego na China (HE et al., 2013). Nenhuma das amostras deste estudo apresentou o fragmento desejado para a VP6, portanto, existe a possibilidade dos rotavírus encontrados em morcegos no Brasil apresentarem mutações que não permitem a hibridização dos primers.

Parra et al. (2008) e Solberg et al. (2009) relataram elevadas taxas de falhas na amplificação para genotipagem em estudos realizados na Argentina e no Equador, de aproximadamente 70% e 60%, respectivamente, sendo que uma das explicações seria a ocorrência de mutações nas regiões de hibridação dos primers, fator determinante para genotipagem (ITURRIZA-GÓMARA et al., 2000; SANTOS et al., 2003). Da mesma maneira, neste estudo também foi observada uma alta taxa de falha na amplificação para genotipagem. Além disso, a baixa carga viral também pode interferir na amplificação, já que para a triagem foi utilizada uma reação de nested RT-PCR para um pequeno fragmento, mais sensível do que a RT-PCR usada para genotipagem.

Sendo assim, outras estratégias devem ser utilizadas para a completa classificação dos rotavírus identificados. O sequenciamento do genoma completo desses vírus é um grande desafio, pois além da diversidade molecular encontrada, adiciona-se o fato de que é obtida uma quantidade pequena de amostra de cada indivíduo, sendo possível a realização de poucas repetições. Além disso, a carga viral aparentemente é baixa, já que muitas amostras foram positivas para a nested RT-PCR de triagem e negativas quando testadas para os outros genes. Portanto, convém utilizar o isolamento viral como estratégia para aumentar a carga viral e a quantidade de amostra disponível.

Finalmente, foram detectados quatro animais apresentando co-infecções. Dois animais apresentaram co-infecção de coronavírus e rotavírus, um animal apresentou infecção simultânea de raiva e rotavírus, e um animal apresentou co-infecção de raiva e coronavírus. Esses dados mostram que os morcegos podem albergar mais de um vírus concomitantemente, fenômeno que reforça a importância desses animais não apenas como reservatório de doenças virais, mas, do ponto de vista de biologia básica, como *habitats* para evolução de diversas espécies de vírus.

Os resultados obtidos ressaltam a importância dos quirópteros como hospedeiros de coronavírus e rotavírus. Entretanto, mais estudos são necessários para obtenção de dados que ampliem o entendimento da epidemiologia e classificação dessas viroses, assim como a inclusão de outras viroses, com o intuito de melhorar a compreensão do papel dos morcegos como reservatórios virais.

Segundo alguns autores, aproximadamente 75% das doenças infecciosas emergentes são de origem zoonótica e possuem como fonte de infecção animais silvestres (TAYLOR; LATHAM; WOOLHOUSE, 2001; WOOLHOUSE, 2002), além disso, a maioria dos patógenos emergentes é composta de vírus RNA (WOOLHOUSE; GOWTAGE-SEQUERIA, 2005) que podem se adaptar e se estabelecer em novas espécies hospedeiras (WOOLHOUSE; HAYDON; ANTIA, 2005) através de eventos de spillover. Sendo assim, torna-se essencial o estudo e a identificação de possíveis reservatórios animais para que se possa prever a fonte de infecção e consequentemente, tomar as medidas preventivas necessárias para o controle das doenças.

6 CONCLUSÕES

Coronavírus foram detectados em frequência de 2,95%, sendo que as maiores proporções de positivos foram para *Cynomops abrasus* e *Cynomops planirostris*.

A ocorrência de rotavírus do grupo A foi de 9,18% e apresentou maior ocorrência no inverno. Doze espécies foram positivas, sugerindo que os rotavírus encontram-se disseminados na população de morcegos, sendo que as maiores proporções de positivos foram para *Myotis albescens* e *Glossophaga soricina*.

A análise filogenética do gene *RdRp* dos coronavírus revelou que oito amostras pertencem ao gênero *Alphacoronavirus*, com uma topologia de árvore sugerindo associação entre o linhagens virais e o gênero de quiróptero.

A análise do gene S das duas sequências obtidas mostra diversidade genética existente entre as diferentes linhagens, sendo que as amostras deste trabalho apresentaram-se distantes filogeneticamente dos demais *Alphacoronavirus*, o que sugere serem novas linhagens.

A caracterização genética dos rotavírus revelou a presença de duas constelações diferentes. Um genótipo G3-P[3]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T3-E3-H6 de *Molossus molossus* e um novo rotavírus G20-P[?]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T?-Ex-H? de *Glossophaga soricina*, apresentando o genótipo G20 raro de humano e genótipos únicos referentes as proteínas VP4, NSP3 e NSP5.

REFERÊNCIAS

- ABE, M.; ITO N.; MASATANI, T.; NAKAGAWA K.; YAMAOKA S.; KANAMARU, Y.; SUZUKI, H.; SHIBANO, K.; ARASHI, Y.; SUGIYAMA, M. Whole genome characterization of new bovine rotavirus G21P[29] and G24P[33] strains provides evidence for interspecies transmission. **The Journal of General Virology**, v. 92, n. 4, p. 952–960, abr. 2011.
- ABE, M.; ITO N.; MORIKAWA, S.; TAKASU, M.; MURASE, T.; KAWASHIMA, T.; KAWAI, Y.; KOHARA, J.; SUGIYAMA, M. Molecular epidemiology of rotaviruses among healthy calves in Japan: isolation of a novel bovine rotavirus bearing new P and G genotypes. **Virus Research**, v. 144, n. 1-2, p. 250–257, set. 2009.
- ABOUDY, Y.; SHIF, I.; ZILBERSTEIN, I.; GOTLIEB-STEMATSKY, T. Use of polyclonal and monoclonal antibodies and analysis of viral RNA in the detection of unusual group A human rotaviruses. **Journal of Medical Virology**, v. 25, n. 3, p. 351–359, jul. 1988.
- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales**. 3. ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. 423p.
- AKASHI, H.; INABA, Y.; MIURA, Y.; TOKUHISA, S.; SATO, K.; SATODA, K. Properties of a coronavirus isolated from a cow with epizootic diarrhea. **Veterinary Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 265–276, dez. 1980.
- ANTHONY, S. J.; OJEDA-FLORES, R.; RICO-CHÁVEZ, O.; NAVARRETE-MACIAS, I.; ZAMBRANA-TORRELIO, C. M.; ROSTAL, M. K.; EPSTEIN, J.H.; TIPPS, T.; LIANG, E.; SANCHEZ-LEON, M.; SOTOMAYOR-BONILLA, J.; AGUIRRE, A. A.; ÁVILA-FLORES, R.; MEDELLÍN, R. A.; GOLDSTEIN, T.; SUZÁN, G.; DASZAK, P.; LIPKIN, W. I. Coronaviruses in bats from Mexico. **The Journal of General Virology**, v. 94, n. 5, p. 1028–1038, maio 2013.
- ARNOLD, M. M.; PATTON, J. T. Diversity of interferon antagonist activities mediated by NSP1 proteins of different rotavirus strains. **Journal of Virology**, v. 85, n. 5, p. 1970–1979, mar. 2011.
- AUGUST, T. A.; MATHEWS, F.; NUNN, M. A. Alphacoronavirus detected in bats in the United Kingdom. **Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)**, v. 12, n. 6, p. 530–533, jun. 2012.
- AUSTAD, S. N. Diverse aging rates in metazoans: targets for functional genomics. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 126, n. 1, p. 43–49, jan. 2005.
- AZHAR, E. I.; EL-KAFRAWY, S. A.; FARRAJ, S. A.; HASSAN, A. M.; AL-SAEED, M. S.; HASHEM, A. M.; MADANI, T. A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 26, p. 2499–2505, 26 jun. 2014.

- BALL, J. M.; TIAN, P.; ZENG, C. Q.; MORRIS, A. P.; ESTES, M. K. Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. **Science (New York, N.Y.)**, v. 272, n. 5258, p. 101–104, 5 abr. 1996.
- BANERJEE, I.; ITURRIZA-GOMARA M.; RAJENDRAN, P.; PRIMROSE, B.; RAMANI, S.; GRAY, J. J.; BROWN, D. W.; KANG, G. Molecular characterization of G11P[25] and G3P[3] human rotavirus strains associated with asymptomatic infection in South India. **Journal of Medical Virology**, v. 79, n. 11, p. 1768–1774, nov. 2007.
- BELOUZARD, S.; MILLET, J. K.; LICITRA, B. N.; WHITTAKER, G. R. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. **Viruses**, v. 4, n. 6, p. 1011–1033, jun. 2012.
- BIANCONI, G. V.; PEDRO, W. A. Família Vespertilionidae. In: REIS, N. R.; PERACHINI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds.). **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. p. 167–195.
- BLACKHALL, J.; FUENTES, A.; MAGNUSSON, G. Genetic stability of a porcine rotavirus RNA segment during repeated plaque isolation. **Virology**, v. 225, n. 1, p. 181–190, 1 nov. 1996.
- BOSCH, B. J.; VAN DER ZEE, R.; DE HAAN, C. A.; ROTTIER, P. J. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. **Journal of Virology**, v. 77, n. 16, p. 8801–8811, ago. 2003.
- BOUDREAUX, C. E.; VILE, D. C.; GILMORE, B. L.; TANNER, J. R.; KELLY, D. F.; MCDONALD, S. M. Rotavirus core shell subdomains involved in polymerase encapsidation into virus-like particles. **The Journal of General Virology**, v. 94, n. 8, p. 1818–1826, ago. 2013.
- BOURSNELL, M. E. G.; BROWN, T. D.; FOULDS, I. J.; GREEN, P. F.; TOMLEY, F. M.; BINNS, M. M. Completion of the sequence of the genome of the coronavirus avian infectious bronchitis virus. **Journal of General Virology**, v. 68, n. 1, p. 57–77, 1 jan. 1987.
- BRANDÃO, P. E.; SCHEFFER, K.; VILLARREAL, L. Y.; ACHKAR, S.; OLIVEIRA, R. D. E. N.; FAHL, W. D. E. O.; CASTILHO, J. G.; KOTAIT, I.; RICHTZENHAIN, L. J. A coronavirus detected in the vampire bat *Desmodus rotundus*. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 466–468, dez. 2008.
- BREDT, A.; UIEDA, W.; PINTO, P. P. Visitas de morcegos fitófagos a *Muntingia calabura* L. (Muntingiaceae), em Brasília, Centro Oeste do Brasil. **Revista de Zoociências**, v. 4, n. 1, p. 111–122, 2002.
- BROCKWAY, S. M.; CLAY, C. T.; LU, X. T.; DENISON, M. R. Characterization of the expression, intracellular localization, and replication complex association of the putative mouse hepatitis virus RNA-dependent RNA polymerase. **Journal of Virology**, v. 77, n. 19, p. 10515–10527, 11 set. 2003.

BUONAVOGLIA, C.; DECARO, N.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CAMPOLO, M., DESARIO, C.; CASTAGNARO, M.; TEMPESTA, M. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 492–494, mar. 2006.

BURKE, B.; MCCRAE, M. A.; DESSELBERGER, U. Sequence analysis of two porcine rotaviruses differing in growth in vitro and in pathogenicity: distinct VP4 sequences and conservation of NS53, VP6 and VP7 genes. **The Journal of General Virology**, v. 75, p. 2205–2212, set. 1994.

CALISHER, C. H.; CHILDS, J. E.; FIELD, H. E.; HOLMES, K. V.; SCHOUNTZ, T. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, n. 3, p. 531–545, jul. 2006.

CARINI, A. Sur une grande épizootie de rage. **Annales Institut Pasteur**, v. 25, p. 843–846, 1911.

CARRINGTON, C. V. F.; FOSTER, J. E.; ZHU, H. C.; ZHANG, J. X.; SMITH, G. J.; THOMPSON, N.; AUGUSTE, A. J.; RAMKISSOON, V.; ADESIYUN, A. A.; GUAN, Y. Detection and phylogenetic analysis of group 1 coronaviruses in South American bats. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1890–1893, dez. 2008.

CAVANAUGH, D. The coronavirus surface protein. In: SIDDELL, S. G. (Ed.). **The coronaviridae**. New York: Plenum, 1995. p. 73–113.

CHEN, Y.; WEN, Y.; LIU, X.; XIONG, X.; CAO, Z.; ZHAO, Q.; YU, Y.; YIN, X.; LI, C.; FAN, Y. Full genomic analysis of human rotavirus strain TB-Chen isolated in China. **Virology**, v. 375, n. 2, p. 361–373, 5 jun. 2008.

CHEN, Y.; ZHU, W.; SUI, S.; YIN, Y.; HU, S.; ZHANG, X. Whole genome sequencing of lamb rotavirus and comparative analysis with other mammalian rotaviruses. **Virus Genes**, v. 38, n. 2, p. 302–310, abr. 2009.

CHENG, J.; LIU, J. X. AND WU, R. Cloning and structural characterization analysis on spike glycoprotein gene of porcine transmissible gastroenteritis virus. **Zhongguo Shouyi Ke-ji**, v. 34, p. 3–11, 2004.

CHIBO, D.; BIRCH, C. Analysis of human coronavirus 229E spike and nucleoprotein genes demonstrates genetic drift between chronologically distinct strains. **The Journal of General Virology**, v. 87, n. 5, p. 1203–1208, maio 2006.

CHOULJENKO, V. N.; LIN, X. Q.; STORZ, J.; KOUSOULAS, K. G.; GORBALENYA, A. E. Comparison of genomic and predicted amino acid sequences of respiratory and enteric bovine coronaviruses isolated from the same animal with fatal shipping pneumonia. **The Journal of General Virology**, v. 82, n. 12, p. 2927–2933, dez. 2001.

CHU, D. K. W.; LEUNG, C. Y.; GILBERT, M.; JOYNER, P. H.; NG, E. M.; TSE, T. M.; GUAN, Y.; PEIRIS, J. S.; POON, L. L. I. Avian coronavirus in wild aquatic birds. **Journal of Virology**, v. 85, n. 23, p. 12815–12820, dez. 2011.

CHU, D. K. W.; PEIRIS, J. S.; CHEN, H.; GUAN, Y.; POON, L. L. Genomic characterizations of bat coronaviruses (1A, 1B and HKU8) and evidence for co-infections in *Miniopterus* bats. **The Journal of General Virology**, v. 89, n. 5, p. 1282–1287, maio 2008.

CHUA, K. B.; KOH, C. L.; HOOI, P. S.; WEE, K. F.; KHONG, J. H.; CHUA, B. H.; CHAN, Y. P.; LIM, M. E.; LAM, S. K.. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 2, p. 145–151, fev. 2002.

CHUNG, K. T.; MCCRAE, M. A. Regulation of gene expression by the NSP1 and NSP3 non-structural proteins of rotavirus. **Archives of Virology**, v. 156, n. 12, p. 2197–2203, dez. 2011.

CIARLET, M.; ESTES, M. K. Rotaviruses: basic biology, epidemiology and methodologies. In: BITTON, G. (Ed.). . **Encyclopedia of Environmental Microbiology**. New York: Wiley, 2002. p. 2753–2773.

CIARLET, M.; ISA, P.; CONNER, M. E.; LIPRANDI, F. Antigenic and molecular analyses reveal that the equine rotavirus strain H-1 is closely related to porcine, but not equine, rotaviruses: interspecies transmission from pigs to horses? **Virus Genes**, v. 22, n. 1, p. 5–20, jan. 2001.

COLLINS, A. R.; KNOBLER, R. L.; POWELL, H.; BUCHMEIER, M. J. Monoclonal antibodies to murine hepatitis virus-4 (strain JHM) define the viral glycoprotein responsible for attachment and cell-cell fusion. **Virology**, v. 119, n. 2, p. 358–371, jun. 1982.

COLLINS, P. J.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C.; O'SHEA, H. Identification of a G2-like porcine rotavirus bearing a novel VP4 type, P[32]. **Veterinary Research**, v. 41, n. 5, p. 73, 2010.

CORMAN, V. M.; RASCHE, A.; DIALLO, T. D.; COTTONTAIL, V. M.; STÖCKER, A.; SOUZA, B. F.; CORRÊA, J. I.; CARNEIRO, A. J.; FRANKE, C. R.; NAGY, M.; METZ, M.; KNÖRNSCHILD, M.; KALKO, E. K.; GHANEM, S. J.; MORALES, K. D.; SALSAMENDI, E.; SPÍNOLA, M.; HERRLER, G.; VOIGT, C. C.; TSCHAPKA, M.; DROSTEN, C.; DREXLER, J. F. Highly diversified coronaviruses in neotropical bats. **The Journal of General Virology**, v. 94, n. 9, p. 1984–1994, set. 2013.

COWLEY, D.; DONATO, C. M.; ROCZO-FARKAS, S.; KIRKWOOD, C. D. Novel G10P[14] rotavirus strain, northern territory, Australia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 8, p. 1324–1327, ago. 2013.

CRAWFORD, S. E.; MUKHERJEE, S. K.; ESTES, M. K.; LAWTON, J. A.; SHAW, A. L.; RAMIG, R. F.; PRASAD, B. V. I. Trypsin cleavage stabilizes the rotavirus VP4 spike. **Journal of Virology**, v. 75, n. 13, p. 6052–6061, jul. 2001.

CRESPO, J. A.; VANELLA, J. M.; BLOOD, B. J.; CARLO, J. M. Observaciones ecologicas del vampiro *Desmodus r. rotundus* (Geoffroy) en el norte de Cordoba. **Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia” e Instituto Nacional de Investigación das Ciências Naturais**, v. 6, p. 131–160, 1961.

DACHEUX, L.; CERVANTES-GONZALEZ, M.; GUIGON, G.; THIBERGE, J. M.; VANDENBOGAERT, M.; MAUFRAIS, C.; CARO, V.; BOURHY, H. A preliminary study of viral metagenomics of French bat species in contact with humans: identification of new mammalian viruses. **PloS One**, v. 9, n. 1, p. e87194, jan. 2014.

DE GRAZIA, S.; BONURA, F.; COLOMBA, C.; CASCIO, A.; DI BERNARDO, F.; COLLURA, A.; TERRANOVA, D. M.; MARTELLA, V.; GIAMMANCO, G. M. Data mining from a 27-years rotavirus surveillance in Palermo, Italy. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 377–384, dez. 2014.

DE GRAZIA, S.; MARTELLA, V.; GIAMMANCO, G. M.; GÒMARA, M. I.; RAMIREZ, S.; CASCIO, A.; COLOMBA, C.; ARISTA, S. Canine-origin G3P[3] rotavirus strain in child with acute gastroenteritis. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1091–1093, jul. 2007.

DE GROOT, R. J.; BAKER, S. C.; BARIC, R.; ENJUANES, L.; GORBALENYA, A. E.; HOLMES, K. V.; POON, L.; ROTTIER, P. J. M.; TALBOT, P. J.; WOO, P. C. Y.; ZIEBUHR, J. Family Coronaviridae. In: KING, A.; ADAMS, M. J.; CARSTENS, E. B.; LEFKOWITZ, E. J. (Eds.). **Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Amsterdam, Boston: Elsevier Academic Press, 2012. p. 806–820.

DE LEENER, K.; RAHMAN, M.; MATTHIJNSSENS, J.; VAN HOOVELS, L.; GOEGEBUER, T.; VAN DER DONCK, I.; VAN RANST, M. Human infection with a P[14], G3 lapine rotavirus. **Virology**, v. 325, n. 1, p. 11–17, 20 jul. 2004.

DEGIUSEPPE, J. I.; BELTRAMINO, J. C.; MILLÁN, A.; STUPKA, J. A.; PARRA, G. I. Complete genome analyses of G4P[6] rotavirus detected in Argentinean children with diarrhoea provides evidence of interspecies transmission from swine. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 19, n. 8, p. 367–371, ago. 2013.

DELMAS, B.; GELFI, J.; L'HARIDON, R.; VOGEL, L. K.; SJÖSTRÖM, H.; NORÉN, O.; LAUDE, H. Aminopeptidase N is a major receptor for the entero-pathogenic coronavirus TGEV. **Nature**, v. 357, n. 6377, p. 417–240, 4 jun. 1992.

DEO, R. C.; GROFT, C. M.; RAJASHANKAR, K. R.; BURLEY, S. K. Recognition of the rotavirus mRNA 3' consensus by an asymmetric NSP3 homodimer. **Cell**, v. 108, n. 1, p. 71–81, 11 jan. 2002.

DESSELBERGER, U. Rotaviruses. **Virus Research**, v. 190, p. 75–96, 22 set. 2014.

DOMINGUEZ, S. R.; O'SHEA, T. J.; OKO, L. M.; HOLMES, K. V. Detection of group 1 coronaviruses in bats in North America. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 12, p. 1295–1300, 26 set. 2008.

DOMINGUEZ, S. R.; O'SHEA, T. J.; OKO, L. M.; HOLMES, K. V. Genomic analysis of 16 Colorado human NL63 coronaviruses identifies a new genotype, high sequence diversity in the N-terminal domain of the spike gene and evidence of recombination. **The Journal of General Virology**, v. 93, n. 11, p. 2387–2398, nov. 2012.

DONALDSON, E. F.; HASKEW, A. N.; GATES, J. E.; HUYNH, J.; MOORE, C. J.; FRIEMAN, M. B. Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among different bat species that share a common habitat. **Journal of Virology**, v. 84, n. 24, p. 13004–13018, dez. 2010.

DREXLER, J. F.; GEIPEL, A.; KÖNIG, A.; CORMAN, V. M.; VAN RIEL, D.; LEIJTEN, L. M.; BREMER, C. M.; RASCHE, A.; COTTONTAIL, V. M.; MAGANGA, G. D.; SCHLEGEL, M.; MÜLLER, M. A.; ADAM, A.; KLOSE, S. M.; CARNEIRO, A. J.; STÖCKER, A.; FRANKE, C. R.; GLOZA-RAUSCH, F.; GEYER, J.; ANNAN, A.; ADU-SARKODIE, Y.; OPPONG, S.; BINGER, T.; VALLO, P.; TSCHAPKA, M.; ULRICH, R. G.; GERLICH, W. H.; LEROY, E.; KUIKEN, T.; GLEBE, D.; DROSTEN, C. Bats carry pathogenic hepadnaviruses antigenically related to hepatitis B virus and capable of infecting human hepatocytes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 40, p. 16151–16156, 1 out. 2013.

DREXLER, J. F.; GLOZA-RAUSCH, F.; GLENDE, J.; CORMAN, V. M.; MUTH, D.; GOETTSCH, M.; SEEBENS, A.; NIEDRIG, M.; PFEFFERLE, S.; YORDANOV, S.; ZHELYAZKOV, L.; HERMANN, U.; VALLO, P.; LUKASHEV, A.; MÜLLER, M. A.; DENG, H.; HERRLER, G.; DROSTEN, C. Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. **Journal of Virology**, v. 84, n. 21, p. 11336–11349, nov. 2010.

DREXLER, J. F.; SEELIN, A.; CORMAN, V. M.; FUMIE TATENO, A.; COTTONTAIL, V.; MELIM ZERBINATI, R.; GLOZA-RAUSCH, F.; KLOSE, S. M.; ADU-SARKODIE, Y.; OPPONG, S. K.; KALKO, E. K.; OSTERMAN, A.; RASCHE, A.; ADAM, A.; MÜLLER, M. A.; ULRICH, R. G.; LEROY, E. M.; LUKASHEV, A. N.; DROSTEN, C. Bats worldwide carry hepatitis E virus-related viruses that form a putative novel genus within the family Hepeviridae. **Journal of Virology**, v. 86, n. 17, p. 9134–9147, set. 2012.

DU, L.; HE, Y.; ZHOU, Y.; LIU, S.; ZHENG, B. J.; JIANG, S. The spike protein of SARS-CoV--a target for vaccine and therapeutic development. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 7, n. 3, p. 226–36, mar. 2009.

DUNN, S. J.; BURNS, J. W.; CROSS, T. L.; VO, P. T.; WARD, R. L.; BREMONT, M.; GREENBERG, H. B. Comparison of VP4 and VP7 of five murine rotavirus strains. **Virology**, v. 203, n. 2, p. 250–259, set. 1994.

DUNN, S. J.; CROSS, T. L.; GREENBERG, H. B. Comparison of the rotavirus nonstructural protein NSP1 (NS53) from different species by sequence analysis and northern blot hybridization. **Virology**, v. 203, n. 1, p. 178–183, 15 ago. 1994.

DUTTA, D.; CHATTOPADHYAY, S.; BAGCHI, P.; HALDER, U. C.; NANDI, S.; MUKHERJEE, A.; KOBAYASHI, N.; TANIGUCHI, K.; CHAWLA-SARKAR, M. Active participation of cellular chaperone Hsp90 in regulating the function of rotavirus nonstructural protein 3 (NSP3). **The Journal of Biological Chemistry**, v. 286, n. 22, p. 20065–20077, 3 jun. 2011.

- ESBÉRARD, C. E. L. Variation in size of colony of *Molossus molossus* and *Molossus rufus* in Rio de Janeiro state, Southeastern Brazil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 2, p. 71–77, 27 set. 2011.
- ESONA, M. D.; MIJATOVIC-RUSTEMPASIC, S.; CONRARDY, C.; TONG, S.; KUZMIN, I. V.; AGWANDA, B.; BREIMAN, R. F.; BANYAI, K.; NIEZGODA, M.; RUPPRECHT, C. E.; GENTSCH, J. R.; BOWEN, M. D. Reassortant group A rotavirus from straw-colored fruit bat (*Eidolon helvum*). **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. 1844–1852, dez. 2010.
- ESTES, M. K.; KAPIKIAN, A. Z. Rotaviruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Eds.). **Fields Virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2007. p. 1917–1975.
- FABBRETTI, E.; AFRIKANOVA, I.; VASCOTTO, F.; BURRONE, O. R. Two non-structural rotavirus proteins, NSP2 and NSP5, form viroplasm-like structures in vivo. **The Journal of General virology**, v. 80, n. 2, p. 333–339, fev. 1999.
- FABIAN, M. E.; GREGORIN, R. Família Molossidae. In: REIS, N. R.; PERACHINI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. (Eds.). **Morcegos do Brasil**. Londrina: Universidade Estadual de Londrina, 2007. p. 149–164.
- FENG, N., SEN, A., NGUYEN, H.; VO, P.; HOSHINO, Y.; DEAL, E. M.; GREENBERG, H. B. Variation in antagonism of the interferon response to rotavirus NSP1 results in differential infectivity in mouse embryonic fibroblasts. **Journal of Virology**, v. 83, n. 14, p. 6987–6994, jul. 2009.
- FERNANDES, E. G.; SATO, H. K.; LESHEM, E.; FLANNEY, B.; KONSTANTYNER, T. C. R. O.; VERAS, M. A. S. M.; PATEL, M. M. Impact of rotavirus vaccination on diarrhea-related hospitalizations in São Paulo State, Brazil. **Vaccine**, v. 32, n. 27, p. 3402–3408, 5 jun. 2014.
- FLEMING, T. H.; NUÑEZ, R. A.; STERNBERG, L. DA S. L. Seasonal changes in the diets of migrant and non-migrant nectarivorous bats as revealed by carbon stable isotope analysis. **Oecologia**, v. 94, n. 1, p. 72–75, 1993.
- GE, X.; LI, J.; PENG, C.; WU, L.; YANG, X.; WU, Y.; ZHANG, Y.; SHI, Z. Genetic diversity of novel circular ssDNA viruses in bats in China. **The Journal of General Virology**, v. 92, n. 11, p. 2646–2653, nov. 2011.
- GÉLINAS, A. M.; BOUTIN, M.; SASSEVILLE, A. M.; DEA, S. Bovine coronaviruses associated with enteric and respiratory diseases in Canadian dairy cattle display different reactivities to anti-HE monoclonal antibodies and distinct amino acid changes in their HE, S and ns4.9 protein. **Virus Research**, v. 76, n. 1, p. 43–57, jul. 2001.
- GENTSCH, J. R.; GLASS, R. I.; WOODS, P.; GOUVEA, V.; GORZIGLIA, M.; FLORES, J.; DAS, B. K.; BHAN, M. K. Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 6, p. 1365–1373, jun. 1992.
- GHOSH, S.; VARGHESE, V.; SAMAJDAR, S.; BHATTACHARYA, S. K.; KOBAYASHI, N.; NAIK, T. N. Molecular characterization of a porcine Group A rotavirus strain with G12 genotype specificity. **Archives of Virology**, v. 151, n. 7, p. 1329–1344, jul. 2006.

- GHOSH, S.; GATHERU, Z.; NYANGAO, J.; ADACHI, N.; URUSHIBARA, N.; KOBAYASHI, N. Full genomic analysis of a simian SA11-like G3P[2] rotavirus strain isolated from an asymptomatic infant: identification of novel VP1, VP6 and NSP4 genotypes. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 1, p. 57–63, jan. 2011.
- GHOSH, S.; SHINTANI, T.; URUSHIBARA, N.; TANIGUCHI, K.; KOBAYASHI, N. Whole-genomic analysis of a human G1P[9] rotavirus strain reveals intergenogroup-reassortment events. **The Journal of General Virology**, v. 93, n. 8, p. 1700–1705, ago. 2012.
- GHOSH, S.; VARGHESE, V.; SAMAJDAR, S.; SINHA, M.; KOBAYASHI, N.; NAIK, T. N. Molecular characterization of bovine group A rotavirus G3P[3] strains. **Archives of Virology**, v. 152, n. 10, p. 1935–1940, jan. 2007.
- GLASS, B. P. Seasonal movements of mexican freetail bats *Tadarida brasiliensis mexicana* banded in the great plains. **The Southwestern Naturalist**, v. 27, n. 2, p. 127–133, 1982.
- GLASS, R. I.; KEITH, J.; NAKAGOMI, O.; NAKAGOMI, T.; ASKAA, J.; KAPIKIAN, A. Z.; CHANOCK, R. M.; FLORES, J. I. Nucleotide sequence of the structural glycoprotein VP7 gene of Nebraska calf diarrhea virus rotavirus: comparison with homologous genes from four strains of human and animal rotaviruses. **Virology**, v. 141, n. 2, p. 292–298, mar. 1985.
- GLOZA-RAUSCH, F.; IPSEN, A.; SEEBENS, A.; GÖTTSCHE, M.; PANNING, M.; DREXLER, J. F.; PETERSEN, N.; ANNAN, A.; GRYWNA, K.; MÜLLER, M.; PFEFFERLE, S.; DROSTEN, C. Detection and prevalence patterns of group I coronaviruses in bats, northern Germany. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 4, p. 626–631, abr. 2008.
- GÓES, L. G. B.; RUVALCABA, S. G.; CAMPOS, A. A.; QUEIROZ, L. H.; DE CARVALHO, C.; JEREZ, J. A.; DURIGON, E. L.; DÁVALOS, L. I.; DOMINGUEZ, S. R. Novel bat coronaviruses, Brazil and Mexico. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 10, p. 1711–1713, out. 2013.
- GOMAA, M. H.; BARTA, J. R.; OJKIC, D.; YOO, D. Complete genomic sequence of turkey coronavirus. **Virus Research**, v. 135, n. 2, p. 237–246, ago. 2008.
- GÓMEZ, M. M.; CARVALHO-COSTA, F. A.; DE MELLO VOLOTÃO, E.; ROSE, T. L.; DA SILVA, M. F.; FIALHO, A. M.; ASSIS, R. M.; DA SILVA RIBEIRO, D. E.; ANDRADE, J.; SÁ, A. C.; ZELLER, M.; HEYLEN, E.; MATTHIJNSSENS, J.; LEITE, J. P. Prevalence and genomic characterization of G2P[4] group A rotavirus strains during monovalent vaccine introduction in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 486–494, dez. 2014a.
- GÓMEZ, M. M.; RESQUE, H. R.; VOLOTÃO EDE, M.; ROSE, T. L.; FIGUEIRA, MARQUES DA SILVA, M.; HEYLEN, E.; ZELLER, M.; MATTHIJNSSENS, J.; LEITE, J. P. Distinct evolutionary origins of G12P[8] and G12P[9] group A rotavirus strains circulating in Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 385–388, dez. 2014b.
- GORZIGLIA, M.; LARREA, C.; LIPRANDI, F.; ESPARZA, J. Biochemical evidence for the oligomeric (possibly trimeric) structure of the major inner capsid polypeptide (45K) of rotaviruses. **Journal of General Virology**, v. 66, p. 1889–1900, 1985.

GORZIGLIA, M.; NISHIKAWA, K.; GREEN, K.; TANIGUCHI, K. Gene sequence of the VP7 serotype specific glycoprotein of Gottfried porcine rotavirus. **Nucleic Acids Research**, v. 16, n. 2, p. 775, 25 jan. 1988.

GORZIGLIA, M.; NISHIKAWA, K.; HOSHINO, Y.; TANIGUCHI, K. Similarity of the outer capsid protein VP4 of the Gottfried strain of porcine rotavirus to that of asymptomatic human rotavirus strains. **Journal of Virology**, v. 64, n. 1, p. 414–418, jan. 1990.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M. C. Identification of bovine and porcine rotavirus G types by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 1338–1340, maio 1994a.

GOUVEA, V.; SANTOS, N.; TIMENETSKY, M. C. VP4 typing of bovine and porcine group A rotaviruses by PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 5, p. 1333–1337, maio 1994b.

GRANT, L.; ESONA, M.; GENTSCH, J.; WATT, J.; REID, R.; WEATHERHOLTZ, R.; SANTOSHAM, M.; PARASHAR, U.; O'BRIEN, K. Detection of G3P[3] and G3P[9] rotavirus strains in American Indian children with evidence of gene reassortment between human and animal rotaviruses. **Journal of Medical Virology**, v. 83, n. 7, p. 1288–1299, jul. 2011.

GREENHALL, A. M.; JOERMANN, G.; SCHIMDT, U. *Desmodus rotundus*. **Mammalian Species**, v. 202, p. 1–6, 1983.

GUAN, Y.; ZHENG, B. J.; HE, Y. Q.; LIU, X. L.; ZHUANG, Z. X.; CHEUNG, C. L.; LUO, S. W.; LI, P. H.; ZHANG, L. J.; GUAN, Y. J.; BUTT, K. M.; WONG, K. L.; CHAN, K. W.; LIM, W.; SHORTRIDGE, K. F.; YUEN, K. Y.; PEIRIS, J. S.; POON, L. L. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. **Science (New York, N.Y.)**, v. 302, n. 5643, p. 276–278, 10 out. 2003.

GULATI, B. R.; DEEPA, R.; SINGH, B. K.; RAO, C. D. Diversity in Indian equine rotaviruses: identification of genotype G10,P6[1] and G1 strains and a new VP7 genotype (G16) strain in specimens from diarrheic foals in India. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 7, p. 2354, jul. 2007.

GURGEL, R. Q.; ALVAREZ ADE, J.; RODRIGUES, A.; RIBEIRO, R. R.; DOLABELLA, S. S.; DA MOTA, N. L.; SANTOS, V. S.; ITURRIZA-GOMARA, M.; CUNLIFFE, N. A.; CUEVAS, L. E. Incidence of Rotavirus and Circulating Genotypes in Northeast Brazil during 7 Years of National Rotavirus Vaccination. **PloS One**, v. 9, n. 10, p. e110217, jan. 2014.

HALL, T. A. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, n. 2, p. 95–98, 1999.

HALPIN, K.; YOUNG, P. L.; FIELD, H. E.; MACKENZIE, J. S. Isolation of Hendra virus from pteropid bats : a natural reservoir of Hendra virus. **Journal of General Virology**, v. 81, p. 1927–1932, 2000.

- HAUPT, H.; REHAAG, H. Raiva epizootica nos rebanhos de Santa Catarina, sul do Brasil, transmitida por morcegos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 2, p. 17–47, 1925.
- HE, B.; YANG, F.; YANG, W.; ZHANG, Y.; FENG, Y.; ZHOU, J.; XIE, J.; FENG, Y.; BAO, X.; GUO, H.; LI, Y.; XIA, L.; LI, N.; MATTHIJNSSENS, J.; ZHANG, H.; TU, C. Characterization of a novel G3P[3] rotavirus isolated from a lesser horseshoe bat: a distant relative of feline/canine rotaviruses. **Journal of Virology**, v. 87, n. 22, p. 12357–12366, nov. 2013.
- HE, Y.; LU, H.; SIDDIQUI, P.; ZHOU, Y.; JIANG, S. Receptor-Binding Domain of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Spike Protein Contains Multiple Conformation-Dependent Epitopes that Induce Highly Potent Neutralizing Antibodies. **The Journal of Immunology**, v. 174, n. 8, p. 4908–4915, 6 abr. 2005.
- HEIMAN, E. M.; MCDONALD, S. M.; BARRO, M.; TARAPOREWALA, Z. F.; BAR-MAGEN, T.; PATTON, J. T. Group A human rotavirus genomics: evidence that gene constellations are influenced by viral protein interactions. **Journal of Virology**, v. 82, n. 22, p. 11106–11116, nov. 2008.
- HOFFMANN, M.; MÜLLER, M. A.; DREXLER, J. F.; GLENDE, J.; ERDT, M.; GÜZKOW, T.; LOSEMANN, C.; BINGER, T.; DENG, H.; SCHWEGMANN-WEBELS, C.; ESSER, K.; DROSTEN, C.; HERRLER, G. Differential sensitivity of bat cells to infection by enveloped RNA viruses: coronaviruses, paramyxoviruses, filoviruses, and influenza viruses. **PloS One**, v. 8, n. 8, p. 1–11, jan. 2013.
- HOFMANN, H.; PYRC, K.; VAN DER HOEK, L.; GEIER, M.; BERKHOUT, B.; PÖHLMANN, S. Human coronavirus NL63 employs the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor for cellular entry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 102, n. 22, p. 7988–7993, 31 maio 2005.
- HOLMES, K. V.; LAI, M. M. C. Coronaviridae: the virus and their replication. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Eds.). **Virology**. 3. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. p. 1075–1093.
- HORIE, Y.; MASAMUNE, O.; NAKAGOMI, O. Three major alleles of rotavirus NSP4 proteins identified by sequence analysis. **The Journal of General Virology**, v. 78, n. 9, p. 2341–2346, set. 1997.
- HORIE, Y.; NAKAGOMI, O.; KOSHIMURA, Y.; NAKAGOMI, T.; SUZUKI, Y.; OKA, T.; SASAKI, S.; MATSUDA, Y.; WATANABE, S. Diarrhea induction by rotavirus NSP4 in the homologous mouse model system. **Virology**, v. 262, n. 2, p. 398–407, 30 set. 1999.
- HRISTOV, N. I.; BETKE, M.; THERIAULT, D. E. H.; BAGCHI, A.; KUNZ, T. H. Seasonal variation in colony size of Brazilian free-tailed bats at Carlsbad Cavern based on thermal imaging. **Journal of Mammalogy**, v. 91, n. 1, p. 183–192, 17 fev. 2010.
- HU, L.; CRAWFORD, S. E.; HYSER, J. M.; ESTES, M. K.; PRASAD, B. V. Rotavirus non-structural proteins: structure and function. **Current Opinion in Virology**, v. 2, n. 4, p. 380–388, ago. 2012.

- HUANG, J. A.; NAGESHA, H. S.; HOLMES, I. H. Comparative sequence analysis of VP4s from five Australian porcine rotaviruses: implication of an apparent new P type. **Virology**, v. 196, n. 1, p. 319–327, set. 1993.
- HYSER, J. M.; COLLINSON-PAUTZ, M. R.; UTAMA, B.; ESTES, M. K. Rotavirus disrupts calcium homeostasis by NSP4 viroporin activity. **MBio**, v. 1, n. 5, p. 1-12, jan. 2010.
- ISEGAWA, Y.; NAKAGOMI, O.; BRÜSSOW, H.; MINAMOTO, N.; NAKAGOMI, T.; UEDA, S. A unique VP4 gene allele carried by an unusual bovine rotavirus strain, 993/83. **Virology**, v. 198, n. 1, p. 366–369, jan. 1994.
- ITO, H.; SUGIYAMA, M.; MASUBUCHI, K.; MORI, Y.; MINAMOTO, N. Complete nucleotide sequence of a group A avian rotavirus genome and a comparison with its counterparts of mammalian rotaviruses. **Virus Research**, v. 75, n. 2, p. 123–138, jun. 2001a.
- ITURRIZA-GÓMARA, M.; GREEN, J.; BROWN, D. W.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. J. Diversity within the VP4 gene of rotavirus P[8] strains: implications for reverse transcription-PCR genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 898–901, fev. 2000.
- ITURRIZA-GÓMARA, M.; ISHERWOOD, B.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J. Reassortment in vivo: driving force for diversity of human rotavirus strains isolated in the United Kingdom between 1995 and 1999. **Journal of Virology**, v. 75, n. 8, p. 3696–3705, abr. 2001.
- JAIN, S.; VASHISTT, J.; CHANGOTRA, H. Rotaviruses: is their surveillance needed? **Vaccine**, v. 32, n. 27, p. 3367–78, 5 jun. 2014.
- JONES, G.; TEELING, E. C. The evolution of echolocation in bats. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 21, n. 3, p. 149–156, mar. 2006.
- JUNG, K.; CHAE, C. Effect of Temperature on the Detection of Porcine Epidemic Diarrhea Virus and Transmissible Gastroenteritis Virus in Fecal Samples by Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 16, n. 3, p. 237–239, 1 maio 2004.
- KALE, P. L.; ANDREOZZI, V. L.; NOBRE, F. F. Time series analysis of deaths due to diarrhoea in children in Rio de Janeiro, Brazil, 1980-1998. **Journal of Health, Population, and Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 27–33, mar. 2004.
- KANTHARIDIS, P.; DYALL-SMITH, M. L.; TREGGAR, G. W.; HOLMES, I. H. Nucleotide sequence of UK bovine rotavirus segment 4: possible host restriction of VP3 genes. **Virology**, v. 166, n. 2, p. 308–315, out. 1988.
- KHAMRIN, P.; MANEEKARN, N.; PEERAKOME, S.; CHAN-IT, W.; YAGYU, F.; OKITSU, S.; USHIJIMA, H. Novel porcine rotavirus of genotype P[27] shares new phylogenetic lineage with G2 porcine rotavirus strain. **Virology**, v. 361, n. 2, p. 243–252, 10 maio 2007.

KHAMRIN, P.; MANEEKARN, N.; PEERAKOME, S.; YAGYU, F.; OKITSU, S.; USHIJIMA, H. Molecular characterization of a rare G3P[3] human rotavirus reassortant strain reveals evidence for multiple human-animal interspecies transmissions. **Journal of Medical Virology**, v. 78, n. 7, p. 986–994, jul. 2006.

KOCHERHANS, R.; BRIDGEN, A.; ACKERMANN, M.; TOBLER, K. Completion of the porcine epidemic diarrhoea coronavirus (PEDV) genome sequence. **Virus Genes**, v. 23, n. 2, p. 137–144, jan. 2001.

KOJIMA, K.; TANIGUCHI, K.; KAWAGISHI-KOBAYASHI, M.; MATSUNO, S.; URASAWA, S. Rearrangement generated in double genes, NSP1 and NSP3, of viable progenies from a human rotavirus strain. **Virus Research**, v. 67, n. 2, p. 163–171, abr. 2000.

KOOL, D. A.; HOLMES, I. H. The avian rotavirus Ty-1 Vp7 nucleotide and deduced amino acid sequences differ significantly from those of Ch-2 rotavirus. **Archives of Virology**, v. 129, n. 1-4, p. 227–234, jan. 1993.

KUIKEN, T.; FOUCHIER, R. A.; SCHUTTEN, M.; RIMMELZWAAN, G. F.; VAN AMERONGEN, G.; VAN RIEL, D.; LAMAN, J. D.; DE JONG, T.; VAN DOORNUM, G.; LIM, W.; LING, A. E.; CHAN, P. K.; TAM, J. S.; ZAMBON, M. C.; GOPAL, R.; DROSTEN, C.; VAN DER WERF, S.; ESCRIOU, N.; MANUGUERRA, J. C.; STÖHR, K.; PEIRIS, J. S.; OSTERHAUS, A. D. Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome. **Lancet**, v. 362, n. 9380, p. 263–270, 26 jul. 2003.

KUMAR, M.; JAYARAM, H.; VASQUEZ-DEL CARPIO, R.; JIANG, X.; TARAPOREWALA, Z. F.; JACOBSON, R. H.; PATTON, J. T.; PRASAD, B. V. Crystallographic and biochemical analysis of rotavirus NSP2 with nucleotides reveals a nucleoside diphosphate kinase-like activity. **Journal of Virology**, v. 81, n. 22, p. 12272–12284, nov. 2007.

KUNZ, T. H.; BRAUN DE TORREZ, E.; BAUER, D.; LOBOVA, T.; FLEMING, T. H. Ecosystem services provided by bats. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1223, p. 1–38, mar. 2011.

KUO, L.; MASTERS, P. S. Genetic Evidence for a Structural Interaction between the Carboxy Termini of the Membrane and Nucleocapsid Proteins of Mouse Hepatitis Virus. **Journal of Virology**, v. 76, n. 10, p. 4987–4999, 15 maio 2002.

LAI, M. M. C.; PERLMAN, S.; ANDRESON, L. J. Coronaviridae. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Eds.). **Fields Virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, 2007. p. 1306–1335.

LANGEREIS, M. A.; VAN VLIET, A. L.; BOOT, W.; DE GROOT, R. J. Attachment of mouse hepatitis virus to O-acetylated sialic acid is mediated by hemagglutinin-esterase and not by the spike protein. **Journal of Virology**, v. 84, n. 17, p. 8970–8974, set. 2010.

LAU, S. K. P.; LI, K. S.; TSANG, A. K.; SHEK, C. T.; WANG, M.; CHOI, G. K.; GUO, R.; WONG, B. H.; POON, R. W.; LAM, C. S.; WANG, S. Y.; FAN, R. Y.; CHAN, K. H.; ZHENG, B. J.; WOO, P. C.; YUEN, K. Y. Recent transmission of a novel alphacoronavirus, bat coronavirus HKU10, from Leschenault's rousettes to pomona leaf-

nosed bats: first evidence of interspecies transmission of coronavirus between bats of different suborders. **Journal of Virology**, v. 86, n. 21, p. 11906–11918, nov. 2012.

LAU, S. K. P.; WOO, P. C.; LI, K. S.; HUANG, Y.; WANG, M.; LAM, C. S.; XU, H.; GUO, R.; CHAN, K. H.; ZHENG, B. J.; YUEN, K. Y. Complete genome sequence of bat coronavirus HKU2 from Chinese horseshoe bats revealed a much smaller spike gene with a different evolutionary lineage from the rest of the genome. **Virology**, v. 367, n. 2, p. 428–439, 25 out. 2007.

LE, V. P.; KIM, J. Y.; CHO, S. L.; NAM, S. W.; LIM, I.; LEE, H. J.; KIM, K.; CHUNG, S. I.; SONG, W.; LEE, K. M.; RHEE, M. S.; LEE, J. S.; KIM, W. Detection of unusual rotavirus genotypes G8P[8] and G12P[6] in South Korea. **Journal of Medical Virology**, v. 80, n. 1, p. 175–182, jan. 2008.

LEDNICKY, J. A.; WALTZEK, T. B.; MCGEEHAN, E.; LOEB, J. C.; HAMILTON, S. B.; LUETKE, M. C. Isolation and genetic characterization of human coronavirus NL63 in primary human renal proximal tubular epithelial cells obtained from a commercial supplier, and confirmation of its replication in two different types of human primary kidney cells. **Virology Journal**, v. 10, p. 213, jan. 2013.

LEE, C. N.; WANG, Y. L.; KAO, C. L.; ZAO, C. L.; LEE, C. Y.; CHEN, H. N. NSP4 gene analysis of rotaviruses recovered from infected children with and without diarrhea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 12, p. 4471–4477, dez. 2000.

LELLI, D.; PAPETTI, A.; SABELLI, C.; ROSTI, E.; MORENO, A.; BONIOTTI, M. B. Detection of coronaviruses in bats of various species in Italy. **Viruses**, v. 5, n. 11, p. 2679–2689, nov. 2013.

LEPARC-GOFFART, I.; HINGLEY, S. T.; CHUA, M. M.; JIANG, X.; LAVI, E.; WEISS, S. R. Altered pathogenesis of a mutant of the murine coronavirus MHV-A59 is associated with a Q159L amino acid substitution in the spike protein. **Virology**, v. 239, n. 1, p. 1–10, 8 dez. 1997.

LEROY, E. M.; KUMULUNGUI, B.; POURRUT, X.; ROUQUET, P.; HASSANIN, A.; YABA, P.; DÉLICAT, A.; PAWESKA, J. T.; GONZALEZ, J. P.; SWANEPOEL, R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. **Nature**, v. 438, n. 7068, p. 575–576, 1 dez. 2005.

LI, F. Evidence for a common evolutionary origin of coronavirus spike protein receptor-binding subunits. **Journal of Virology**, v. 86, n. 5, p. 2856–2858, mar. 2012.

LI, F. Receptor recognition and cross-species infections of SARS coronavirus. **Antiviral Research**, v. 100, n. 1, p. 246–254, out. 2013.

LI, W.; VASILIEVA, N.; SUI, J.; WONG, S. K.; BERNE, M. A.; SOMASUNDARAN, M.; SULLIVAN, J. L.; LUZURIAGA, K.; GREENOUGH, T. C.; CHOE, H.; FARZAN, M. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. **Nature**, v. 426, n. 6965, p. 450–454, 27 nov. 2003.

LI, W.; YU, M.; REN, W.; SMITH, C.; EPSTEIN, J. H.; WANG, H.; CRAMERI, G.; HU, Z.; ZHANG, H.; ZHANG, J.; MCEACHERN, J.; FIELD, H.; DASZAK, P.; EATON, B. T.;

ZHANG, S.; WANG, L. F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. **Science (New York, N.Y.)**, v. 310, n. 5748, p. 676–679, 28 out. 2005.

LIMA, F. E. D. S.; CAMPOS, F. S.; KUNERT FILHO, H. C.; BATISTA, H. B.; CARNIELLI, P. JR.; CIBULSKI, S. P.; SPILKI, F. R.; ROEHE, P. M.; FRANCO, A. C. 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, n. 1, p. 164–167, ago. 2013.

LUCHS, A.; CILLI, A.; MORILLO, S. G.; CARMONA, RDE. C.; TIMENETSKY, MDO. C. Rare G3P[3] rotavirus strain detected in Brazil: possible human-canine interspecies transmission. **Journal of Clinical Virology**, v. 54, n. 1, p. 89–92, maio 2012.

LUCHS, A.; TIMENETSKY, M. DO C. S. T. G8P[6] rotaviruses isolated from Amerindian children in Mato Grosso do Sul, Brazil, during 2009: close relationship of the G and P genes with those of bovine and bat strains. **The Journal of General Virology**, v. 95, n. 3, p. 627–641, mar. 2014.

MAGLE, S. B.; HUNT, V. M.; VERNON M.; CROOKS, K. Urban wildlife research: Past, present, and future. **Biological Conservation**, v. 155, p. 23–32, out. 2012.

MÁLAGA-ALBA, A. Vampire Bat as a Carrier of Rabies. **American Journal of Public Health and the Nations Health**, v. 44, n. 7, p. 909–918, jul. 1954.

MARRA, M. A.; JONES, S. J.; ASTELL, C. R.; HOLT, R. A.; BROOKS-WILSON, A.; BUTTERFIELD, Y. S.; KHATTRA, J.; ASANO, J. K.; BARBER, S. A.; CHAN, S. Y.; CLOUTIER, A.; COUGHLIN, S. M.; FREEMAN, D.; GIRN, N.; GRIFFITH, O. L.; LEACH, S. R.; MAYO, M.; MCDONALD, H.; MONTGOMERY, S.B.; PANDOH, P. K.; PETRESCU, A. S.; ROBERTSON, A. G.; SCHEIN, J. E.; SIDDIQUI, A.; SMAILUS, D. E.; STOTT, J. M.; YANG, G. S.; PLUMMER, F.; ANDONOV, A.; ARTSOB, H.; BASTIEN, N.; BERNARD, K.; BOOTH, T. F.; BOWNESS, D.; CZUB, M.; DREBOT, M.; FERNANDO, L.; FLICK, R.; GARbutt, M.; GRAY, M.; GROLLA, A.; JONES, S.; FELDMANN, H.; MEYERS, A.; KABANI, A.; LI, Y.; NORMAND, S.; STROHER, U.; TIPPLES, G. A.; TYLER, S.; VOGRIG, R.; WARD, D.; WATSON, B.; BRUNHAM, R. C.; KRAJDEN, M.; PETRIC, M.; SKOWRONSKI, D. M.; UPTON, C.; ROPER, R. L. The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus. **Science (New York, N.Y.)**, v. 300, n. 5624, p. 1399–1404, 30 maio 2003.

MARTELLA, V.; CIARLET, M.; BÁNYAI, K.; LORUSSO, E.; CAVALLI, A.; CORRENTE, M.; ELIA, G.; ARISTA, S.; CAMERO, M.; DESARIO, C.; DECARO, N.; LAVAZZA, A.; BUONAVOGLIA, C. Identification of a novel VP4 genotype carried by a serotype G5 porcine rotavirus strain. **Virology**, v. 346, n. 2, p. 301–311, 15 mar. 2006.

MARTELLA, V.; CIARLET, M.; BASELGA, R.; ARISTA, S.; ELIA, G.; LORUSSO, E.; BÁNYAI, K.; TERIO, V.; MADIO, A.; RUGGERI, F. M.; FALCONE, E.; CAMERO, M.; DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Sequence analysis of the VP7 and VP4 genes identifies a novel VP7 gene allele of porcine rotaviruses, sharing a common evolutionary origin with human G2 rotaviruses. **Virology**, v. 337, n. 1, p. 111–123, 20 jun. 2005.

MARTHALER, D.; JIANG, Y.; OTTERSON, T.; GOYAL, S.; ROSSOW, K.; COLLINS, J. Complete Genome Sequence of Porcine Epidemic Diarrhea Virus Strain USA/Colorado/2013 from the United States. **Genome Announcements**, v. 1, n. 4, p. 1–2, jan. 2013.

MASTERS, P. S. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in virus research**, v. 66, p. 193–292, jan. 2006.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; HEIMAN, E.; ARIJS, I.; DELBEKE, T.; MCDONALD, S. M.; PALOMBO, E. A.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; MAES, P.; PATTON, J. T.; RAHMAN, M.; VAN RANST, M. Full genome-based classification of rotaviruses reveals a common origin between human Wa-Like and porcine rotavirus strains and human DS-1-like and bovine rotavirus strains. **Journal of Virology**, v. 82, n. 7, p. 3204–3219, abr. 2008a.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; MCDONALD, S. M.; ATTOUI, H.; BÁNYAI, K.; BRISTER, JR.; BUESA, J.; ESONA, M. D.; ESTES, M. K.; GENTSCH, JR.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; JOHNE, R.; KIRKWOOD, C. D.; MARTELLA, V.; MERTENS, P. P.; NAKAGOMI, O.; PARREÑO, V.; RAHMAN, M.; RUGGERI, F. M.; SAIF, L. J.; SANTOS, N.; STEYER, A.; TANIGUCHI, K.; PATTON, J. T.; DESSELBERGER, U.; VAN RANST, M. Uniformity of rotavirus strain nomenclature proposed by the Rotavirus Classification Working Group (RCWG). **Archives of Virology**, v. 156, n. 8, p. 1397–1413, ago. 2011a.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; RAHMAN, M.; ATTOUI, H.; BÁNYAI, K.; ESTES, M. K.; GENTSCH, JR.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; KIRKWOOD, C. D.; MARTELLA, V.; MERTENS, P. P.; NAKAGOMI, O.; PATTON, J. T.; RUGGERI, F. M.; SAIF, L. J.; SANTOS, N.; STEYER, A.; TANIGUCHI, K.; DESSELBERGER, U.; VAN RANST, M. Recommendations for the classification of group A rotaviruses using all 11 genomic RNA segments. **Archives of Virology**, v. 153, n. 8, p. 1621–9, jan. 2008b.

MATTHIJNSSENS, J.; DE GRAZIA, S.; PIESSENS, J.; HEYLEN, E.; ZELLER, M.; GIAMMANCO, G. M.; BÁNYAI, K.; BUONAVOGLIA, C.; CIARLET, M.; MARTELLA, V.; VAN RANST, M. Multiple reassortment and interspecies transmission events contribute to the diversity of feline, canine and feline/canine-like human group A rotavirus strains. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 11, n. 6, p. 1396–1406, ago. 2011b.

MATTHIJNSSENS, J.; MIÑO, S.; PAPP, H.; POTGIETER, C.; NOVO, L.; HEYLEN, E.; ZELLER, M.; GARAICOECHEA, L.; BADARACCO, A.; LENGUEL, G.; KISFALI, P.; CULLINANE, A.; COLLINS, P. J.; CIARLET, M.; O'SHEA, H.; PARREÑO, V.; BÁNYAI, K.; BARRANDEGUY, M.; VAN RANST, M. Complete molecular genome analyses of equine rotavirus A strains from different continents reveal several novel genotypes and a largely conserved genotype constellation. **The Journal of General Virology**, v. 93, n. 4, p. 866–875, abr. 2012a.

MATTHIJNSSENS, J.; OTTO, P. H.; CIARLET, M.; DESSELBERGER, U.; VAN RANST, M.; JOHNE, R. VP6-sequence-based cutoff values as a criterion for rotavirus species demarcation. **Archives of Virology**, v. 157, n. 6, p. 1177–1182, jun. 2012b.

MATTHIJNSSENS, J.; POTGIETER, C. A.; CIARLET, M.; PARREÑO, V.; MARTELLA, V.; BÁNYAI, K.; GARAICOECHEA, L.; PALOMBO, E. A.; NOVO, L.; ZELLER, M.; ARISTA, S.; GERNA, G.; RAHMAN, M.; VAN RANST, M. Are human P[14] rotavirus

strains the result of interspecies transmissions from sheep or other ungulates that belong to the mammalian order Artiodactyla? **Journal of Virology**, v. 83, n. 7, p. 2917–2929, abr. 2009.

MATTHIJNSSENS, J.; RAHMAN, M.; CIARLET, M.; ZELLER, M.; HEYLEN, E.; NAKAGOMI, T.; UCHIDA, R.; HASSAN, Z.; AZIM, T.; NAKAGOMI, O.; VAN RANST, M. Reassortment of human rotavirus gene segments into G11 rotavirus strains. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 625–630, abr. 2010a.

MATTHIJNSSENS, J.; RAHMAN, M.; MARTELLA, V.; XUELEI, Y.; DE VOS, S.; DE LEENER, K.; CIARLET, M.; BUONAVOGLIA, C.; VAN RANST, M. Full genomic analysis of human rotavirus strain B4106 and lapine rotavirus strain 30/96 provides evidence for interspecies transmission. **Journal of Virology**, v. 80, n. 8, p. 3801–3810, abr. 2006a.

MATTHIJNSSENS, J.; RAHMAN, M.; YANG, X.; DELBEKE, T.; ARIJS, I.; KABUE, J. P.; MUYEMBE, J. J.; VAN RANST, M. G8 rotavirus strains isolated in the Democratic Republic of Congo belong to the DS-1-like genogroup. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 5, p. 1801–1809, maio 2006b.

MATTHIJNSSENS, J.; TARAPOREWALA, Z. F.; YANG, H.; RAO, S.; YUAN, L.; CAO, D.; HOSHINO, Y.; MERTENS, P. P.; CARNER, G. R.; MCNEAL, M.; SESTAK, K.; VAN RANST, M.; PATTON, J. T. Simian rotaviruses possess divergent gene constellations that originated from interspecies transmission and reassortment. **Journal of Virology**, v. 84, n. 4, p. 2013–2026, fev. 2010b.

MAYEN, F. Haematophagous bats in Brazil, their role in rabies transmission, impact on public health, livestock industry and alternatives to an indiscriminate reduction of bat population. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 50, n. 10, p. 469–472, dez. 2003.

MEMISH, Z. A.; MISHRA, N.; OLIVAL, K. J.; FAGBO, S. F.; KAPOOR, V.; EPSTEIN, J. H.; ALHAKEEM, R.; DUROSINLOUN, A.; AL ASMARI, M.; ISLAM, A.; KAPOOR, A.; BRIESE, T.; DASZAK, P.; AL RABEEAH, A. A.; LIPKIN, W. I. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 11, p. 1819–1823, nov. 2013.

MIHINDUKULASURIYA, K. A.; WU, G. ST.; LEGER, J.; NORDHAUSEN, R. W.; WANG, D. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. **Journal of Virology**, v. 82, n. 10, p. 5084–5088, maio 2008.

MIÑO, S.; MATTHIJNSSENS, J.; BADARACCO, A.; GARAICOECHEA, L.; ZELLER, M.; HEYLEN, E.; VAN RANST, M.; BARRANDEGUY, M.; PARREÑO V. Equine G3P[3] rotavirus strain E3198 related to simian RRV and feline/canine-like rotaviruses based on complete genome analyses. **Veterinary Microbiology**, v. 161, n. 3-4, p. 239–246, 25 jan. 2013.

MISRA, V.; DUMONCEAUX, T.; DUBOIS, J.; WILLIS, C.; NADIN-DAVIS, S.; SEVERINI, A.; WANDELER, A.; LINDSAY, R.; ARTSOB, H. Detection of polyoma and corona viruses in bats of Canada. **The Journal of General Virology**, v. 90, n. 8, p. 2015–2022, 1 ago. 2009.

MIYAZAKI, A.; KUGA, K.; SUZUKI, T.; KOHMOTO, M.; KATSUDA, K.; TSUNEMITSU, H. Genetic diversity of group A rotaviruses associated with repeated outbreaks of diarrhea in a farrow-to-finish farm: identification of a porcine rotavirus strain bearing a novel VP7 genotype, G26. **Veterinary Research**, v. 42, p. 112, jan. 2011.

MLERA, L.; JERE, K. C.; VAN DIJK, A. A.; O'NEILL, H. G. Determination of the whole-genome consensus sequence of the prototype DS-1 rotavirus using sequence-independent genome amplification and 454® pyrosequencing. **Journal of Virological Methods**, v. 175, n. 2, p. 266–271, ago. 2011.

MOËS, E.; VIJGEN, L.; KEYAERTS, E.; ZLATEVA, K.; LI, S.; MAES, P.; PYRC, K.; BERKHOUT, B.; VAN DER HOEK, L.; VAN RANST, M. A novel pancoronavirus RT-PCR assay: frequent detection of human coronavirus NL63 in children hospitalized with respiratory tract infections in Belgium. **BMC Infectious Diseases**, v. 5, p. 6, 1 fev. 2005.

MORI, Y.; BORGAN, M. A.; ITO, N.; SUGIYAMA, M.; MINAMOTO, N. Diarrhea-inducing activity of avian rotavirus NSP4 glycoproteins, which differ greatly from mammalian rotavirus NSP4 glycoproteins in deduced amino acid sequence in suckling mice. **Journal of Virology**, v. 76, n. 11, p. 5829–5834, jun. 2002.

MORI, Y.; BORGAN, M. A.; TAKAYAMA, M.; ITO, N.; SUGIYAMA, M.; MINAMOTO, N. Roles of outer capsid proteins as determinants of pathogenicity and host range restriction of avian rotaviruses in a suckling mouse model. **Virology**, v. 316, n. 1, p. 126–134, 10 nov. 2003.

MOTOKAWA, K.; HOHDATSU, T.; HASHIMOTO, H.; KOYAMA, H. Comparison of the amino acid sequence and phylogenetic analysis of the peplomer, integral membrane and nucleocapsid proteins of feline, canine and porcine coronaviruses. **Microbiology and Immunology**, v. 40, n. 6, p. 425–433, jan. 1996.

MUKHERJEE, A.; MULLICK, S.; KOBAYASHI, N.; CHAWLA-SARKAR, M. The first identification of rare human group A rotavirus strain G3P[10] with severe infantile diarrhea in eastern India. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 8, p. 1933–1937, dez. 2012.

NAVAS, S.; SEO, S. H.; CHUA, M. M.; DAS SARMA, J.; LAVI, E.; HINGLEY, S. T.; WEISS, S. R. Murine coronavirus spike protein determines the ability of the virus to replicate in the liver and cause hepatitis. **Journal of Virology**, v. 75, n. 5, p. 2452–2457, mar. 2001.

NAVAS-MARTIN, S.; WEISS, S. R. SARS: lessons learned from other coronaviruses. **Viral Immunology**, v. 16, n. 4, p. 461–474, jan. 2003.

NEWTON, K.; MEYER, J. C.; BELLAMY, A. R.; TAYLOR, J. A. Rotavirus nonstructural glycoprotein NSP4 alters plasma membrane permeability in mammalian cells. **Journal of Virology**, v. 71, n. 12, p. 9458–9465, dez. 1997.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. 6a. ed. Baltimore e London: The Johns Hopkins University Press, 1999. p. 836

O'SHEA, T. J.; CRYAN, P. M.; CUNNINGHAM, A. A.; FOOKS, A. R.; HAYMAN, D. T.; LUIS, A. D.; PEEL, A. J.; PLOWRIGHT, R. K.; WOOD, J. L. Bat flight and zoonotic viruses. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 741–745, maio 2014.

OKADERA, K.; ABE, M.; ITO, N.; MORIKAWA, S.; YAMASAKI, A.; MASATANI, T.; NAKAGAWA, K.; YAMAOKA, S.; SUGIYAMA, M. Evidence of natural transmission of group A rotavirus between domestic pigs and wild boars (*Sus scrofa*) in Japan. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 20, p. 54–60, dez. 2013.

OKITSU, S.; KHAMRIN, P.; THONGPRACHUM, A.; MANEEKARN, N.; MIZUGUCHI, M.; USHIJIMA, H. Predominance of porcine P[23] genotype rotaviruses in piglets with diarrhea in northern Thailand. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 1, p. 442–445, jan. 2011.

ORTEGO, J.; CERIANI, J. E.; PATIÑO, C.; PLANA, J.; ENJUANES, L. Absence of E protein arrests transmissible gastroenteritis coronavirus maturation in the secretory pathway. **Virology**, v. 368, n. 2, p. 296–308, 25 nov. 2007.

OSBORNE, C.; CRYAN, P. M.; O'SHEA, T. J.; OKO, L. M.; NDALUKA, C.; CALISHER, C. H.; BERGLUND, A. D.; KLAVETTER, M. L.; BOWEN, R. A.; HOLMES, K. V.; DOMINGUEZ, S. R. Alphacoronaviruses in New World bats: prevalence, persistence, phylogeny, and potential for interaction with humans. **PloS One**, v. 6, n. 5, p. e19156, jan. 2011.

PACHECO, S. M.; SODRÉ, M.; GAMA, A. R.; BREDT, A.; CAVALLINI, E. M.; SANCHES, R. V. M.; GUIMARÃES, M. M.; BIANCONI, G. Morcegos urbanos: status do conhecimento e plano de ação para a conservação no Brasil. **Chiroptera Neotropical**, v. 16, n.1, p. 629-647, 2010.

PADILLA-NORIEGA, L.; DUNN, S. J.; LÓPEZ, S.; GREENBERG, H. B.; ARIAS, C. F. Identification of two independent neutralization domains on the VP4 trypsin cleavage products VP5* and VP8* of human rotavirus ST3. **Virology**, v. 206, n. 1, p. 148–154, 10 jan. 1995.

PARK, S.-H.; SAIF, L. J.; JEONG, C.; LIM, G. K.; PARK, S. I.; KIM, H. H.; PARK, S. J.; KIM, Y. J.; JEONG, J. H.; KANG, M. I.; CHO, K. O. Molecular characterization of novel G5 bovine rotavirus strains. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 11, p. 4101–4112, nov. 2006.

PARRA, G. I. Seasonal shifts of group A rotavirus strains as a possible mechanism of persistence in the human population. **Journal of Medical Virology**, v. 81, n. 3, p. 568–571, mar. 2009.

PARRA, G. I.; BOK, K.; MARTÍNEZ, M.; GOMEZ, J. A. Evidence of rotavirus intragenic recombination between two sublineages of the same genotype. **Journal of General Virology**, v. 85, n. 6, p. 1713–1716, 1 jun. 2004.

PARRA, G. I. ; VIDALES, G.; GOMEZ, J. A.; FERNANDEZ, F. .; PARREÑO, V.; BOK, K. Phylogenetic analysis of porcine rotavirus in Argentina: increasing diversity of G4 strains and

evidence of interspecies transmission. **Veterinary Microbiology**, v. 126, n. 1-3, p. 243–250, 1 jan. 2008.

PASTERNAK, A. O.; SPAAN, W. J. M.; SNIJDER, E. J. Nidovirus transcription: how to make sense...? **The Journal of General Virology**, v. 87, n. 6, p. 1403–1421, jun. 2006.

PATTON, J. T.; JONES, M. T.; KALBACH, A. N.; HE, Y. W.; XIAOBO, J. Rotavirus RNA polymerase requires the core shell protein to synthesize the double-stranded RNA genome. **Journal of Virology**, v. 71, n. 12, p. 9618–9626, dez. 1997.

PEIRIS, J.; LAI, S. T.; POON, L. L.; GUAN, Y.; YAM, L. Y.; LIM, W.; NICHOLLS, J.; YEE, W. K.; YAN, W. W.; CHEUNG, M. T.; CHENG, V. C.; CHAN, K. H.; TSANG, D. N.; YUNG, R. W.; NG, T. K.; YUEN, K. Y.; SARS STUDY GROUP. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. **The Lancet**, v. 361, n. 9366, p. 1319–1325, abr. 2003.

PENG, G.; SUN, D.; RAJASHANKAR, K. R.; QIAN, Z.; HOLMES, K. V.; LI, F. Crystal structure of mouse coronavirus receptor-binding domain complexed with its murine receptor. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 26, p. 10696–10701, 28 jun. 2011.

PERLMAN, S.; NETLAND, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. **Nature Reviews. Microbiology**, v. 7, n. 6, p. 439–450, jun. 2009.

PFEFFERLE, S.; OPPONG, S.; DREXLER, J. F.; GLOZA-RAUSCH, F.; IPSEN, A.; SEEBENS, A.; MÜLLER, M. A.; ANNAN, A.; VALLO, P.; ADU-SARKODIE, Y.; KRUPPA, T. F.; DROSTEN, C. Distant relatives of severe acute respiratory syndrome coronavirus and close relatives of human coronavirus 229E in bats, Ghana. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 9, p. 1377–1384, set. 2009.

PODLUTSKY, A. J.; KHRITANKOV, A. M.; OVODOV, N. D.; AUSTAD, S. N. A new field record for bat longevity. **The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences**, v. 60, n. 11, p. 1366–1368, 1 nov. 2005.

PONGSUWANNA, Y.; GUNTAPONG, R.; CHIWAKUL, M.; TACHAROENMUANG, R.; ONVIMALA, N.; WAKUDA, M.; KOBAYASHI, N.; TANIGUCHI, K. Detection of a human rotavirus with G12 and P[9] specificity in Thailand. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 1390–1394, abr. 2002.

POON, L. L. M.; CHU, D. K.; CHAN, K. H.; WONG, O. K.; ELLIS, T. M.; LEUNG, Y. H.; LAU, S. K.; WOO, P. C.; SUEN, K. Y.; YUEN, K. Y.; GUAN, Y.; PEIRIS, J. S. Identification of a novel coronavirus in bats. **Journal of Virology**, v. 79, n. 4, p. 2001–2009, fev. 2005.

POPOVA, R.; ZHANG, X. The spike but not the hemagglutinin/esterase protein of bovine coronavirus is necessary and sufficient for viral infection. **Virology**, v. 294, n. 1, p. 222–236, 1 mar. 2002.

RAHMAN, M.; MATTHIJNSSENS, J.; NAHAR, S.; PODDER, G.; SACK, D. A.; AZIM, T.; VAN RANST, M. Characterization of a novel P[25],G11 human group A rotavirus. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 7, p. 3208–3212, jul. 2005.

RAHMAN, M.; MATTHIJNSSENS, J.; YANG, X.; DELBEKE, T.; ARIJS, I.; TANIGUCHI, K.; ITURRIZA-GÓMARA, M.; IFTEKHARUDDIN, N.; AZIM, T.; VAN RANST, M. Evolutionary history and global spread of the emerging g12 human rotaviruses. **Journal of Virology**, v. 81, n. 5, p. 2382–2390, mar. 2007.

RAJ, V. S.; FARAG, E. A.; REUSKEN, C. B.; LAMERS, M. M.; PAS, S. D.; VOERMANS, J.; SMITS, S. L.; OSTERHAUS, A. D.; AL-MAWLAWI, N.; AL-ROMAIHI, H. E.; ALHAJRI, M. M.; EL-SAYED, A. M.; MOHRAN, K. A.; GHOBASHY, H.; ALHAJRI, F.; AL-THANI, M.; AL-MARRI, S. A.; EL-MAGHRABY, M. M.; KOOPMANS, M. P.; HAAGMANS, B. L. Isolation of MERS coronavirus from a dromedary camel, Qatar, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 8, p. 1339–1342, ago. 2014.

RAJ, V. S.; MOU, H.; SMITS, S. L.; DEKKERS, D. H.; MÜLLER, M. A.; DIJKMAN, R.; MUTH, D.; DEMMERS, J. A.; ZAKI, A.; FOUCHIER, R. A.; THIEL, V.; DROSTEN, C.; ROTTIER, P. J.; OSTERHAUS, A. D.; BOSCH, B. J.; HAAGMANS, B. L. Dipeptidyl peptidase 4 is a functional receptor for the emerging human coronavirus-EMC. **Nature**, v. 495, n. 7440, p. 251–254, 14 mar. 2013.

RAMACHANDRAN, M.; GENTSCH, J. R.; PARASHAR, U. D.; JIN, S.; WOODS, P. A.; HOLMES, J. L.; KIRKWOOD, C. D.; BISHOP, R. F.; GREENBERG, H. B.; URASAWA, S.; GERNA, G.; COULSON, B. S.; TANIGUCHI, K.; BRESEE, J. S.; GLASS, R. I. Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 11, p. 3223–3229, nov. 1998.

RAO, C. D.; DAS, M.; ILANGO, P.; LALWANI, R.; RAO, B. S.; GOWDA, K. Comparative nucleotide and amino acid sequence analysis of the sequence-specific RNA-binding rotavirus nonstructural protein NSP3. **Virology**, v. 207, n. 1, p. 327–333, 20 fev. 1995.

RAO, C. D.; GOWDA, K.; REDDY, B. S. Sequence analysis of VP4 and VP7 genes of nontypeable strains identifies a new pair of outer capsid proteins representing novel P and G genotypes in bovine rotaviruses. **Virology**, v. 276, n. 1, p. 104–113, 10 out. 2000.

REGAN, A. D.; MILLET, J. K.; TSE, L. P.; CHILLAG, Z.; RINALDI, V. D.; LICITRA, B. N.; DUBOVI, E. J.; TOWN, C. D.; WHITTAKER, G. R. Characterization of a recombinant canine coronavirus with a distinct receptor-binding (S1) domain. **Virology**, v. 430, n. 2, p. 90–99, 1 set. 2012.

REUSKEN, C. B. E. M.; HAAGMANS, B. L.; MÜLLER, M. A.; GUTIERREZ, C.; GODEKE, G. J.; MEYER, B.; MUTH, D.; RAJ, V. S.; SMITS-DE VRIES, L.; CORMAN, V. M.; DREXLER, J. F.; SMITS, S. L.; EL TAHIR, Y. E.; DE SOUSA, R.; VAN BEEK, J.; NOWOTNY, N.; VAN MAANEN, K.; HIDALGO-HERMOSO, E.; BOSCH, B. J.; ROTTIER, P.; OSTERHAUS, A.; GORTÁZAR-SCHMIDT, C.; DROSTEN, C.; KOOPMANS, M. P. Middle East respiratory syndrome coronavirus neutralising serum antibodies in dromedary camels: a comparative serological study. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 13, n. 10, p. 859–866, out. 2013.

RICHARDSON, M. A.; IWAMOTO, A.; IKEGAMI, N.; NOMOTO, A.; FURUICHI, Y. Nucleotide sequence of the gene encoding the serotype-specific antigen of human (Wa) rotavirus: comparison with the homologous genes from simian SA11 and UK bovine rotaviruses. **Journal of Virology**, v. 51, n. 3, p. 860–862, set. 1984.

RIPPINGER, C. M.; PATTON, J. T.; MCDONALD, S. M. Complete genome sequence analysis of candidate human rotavirus vaccine strains RV3 and 116E. **Virology**, v. 405, n. 1, p. 201–213, 15 set. 2010.

ROHWEDDER, A.; HOTOP, H.; MINAMOTO, N.; ITO, H.; NAKAGOMI, O.; BRÜSSOW, H. Bovine rotavirus 993/83 shows a third subtype of avian VP7 protein. **Virus Genes**, v. 14, n. 2, p. 147–151, jan. 1997.

RUIZ, A. M.; LÓPEZ, I. V.; LÓPEZ, S.; ESPEJO, R. T.; ARIAS, C. F. Molecular and antigenic characterization of porcine rotavirus YM, a possible new rotavirus serotype. **Journal of Virology**, v. 62, n. 11, p. 4331–4336, nov. 1988.

SALEM, A. N. BEN; CHUPIN, S. A.; BJADOVSKAYA, O. P.; ANDREEVA, O. G.; MAHJOUB, A.; PROKHAVATILOVA, L. B. Multiplex nested RT-PCR for the detection of porcine enteric viruses. **Journal of Virological Methods**, v. 165, n. 2, p. 283–293, maio 2010.

SANTOS, N.; HOSHINO, Y. Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. **Reviews in Medical Virology**, v. 15, n. 1, p. 29–56, 2005.

SANTOS, N.; VOLOTÃO, E. M.; SOARES, C. C.; ALBUQUERQUE, M. C. M.; DA SILVA, F. M.; CHIZHIKOV, V.; HOSHINO, Y. VP7 gene polymorphism of serotype G9 rotavirus strains and its impact on G genotype determination by PCR. **Virus Research**, v. 93, n. 1, p. 127–138, maio 2003.

SAWICKI, S. G.; SAWICKI, D. L.; YOUNKER, D.; MEYER, Y.; THIEL, V.; STOKES, H.; SIDDELL, S. G. Functional and genetic analysis of coronavirus replicase-transcriptase proteins. **PLoS Pathogens**, v. 1, n. 4, p. e39, dez. 2005.

SCHEFFER, K. C.; IAMAMOTO, K.; ASANO, K. M.; MORI, E.; ESTEVEZ GARCIA, A. I.; ACHKAR, S. M.; FAHL, W. O. [Hematophagous bats as reservoirs of rabies]. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 31, n. 2, p. 302–309, abr. 2014.

SCHNEIDER, M. C.; ROMIJN, P. C.; UIEDA, W.; TAMAYO, H.; DA SILVA, D. F.; BELOTTO, A.; DA SILVA, J. B.; LEANES, L. F. Rabies transmitted by vampire bats to humans: an emerging zoonotic disease in Latin America? **Revista Panamericana de Salud Pública = Pan American Journal of Public Health**, v. 25, n. 3, p. 260–269, mar. 2009.

SCHNEPF, N.; DEBACK, C.; DEHEE, A.; GAULT, E.; PAREZ, N.; GARBARG-CHENON, A. Rearrangements of rotavirus genomic segment 11 are generated during acute infection of immunocompetent children and do not occur at random. **Journal of Virology**, v. 82, n. 7, p. 3689–3696, abr. 2008.

SCHULTZE, B.; CAVANAGH, D.; HERRLER, G. Neuraminidase treatment of avian infectious bronchitis coronavirus reveals a hemagglutinating activity that is dependent on sialic acid-containing receptors on erythrocytes. **Virology**, v. 189, n. 2, p. 792–794, ago. 1992.

SCHULTZE, B.; GROSS, H. J.; BROSSMER, R.; HERRLER, G. The S protein of bovine coronavirus is a hemagglutinin recognizing 9-O-acetylated sialic acid as a receptor determinant. **Journal of Virology**, v. 65, n. 11, p. 6232–6237, nov. 1991.

SCHUMANN, T.; HOTZEL, H.; OTTO, P.; JOHNE, R. Evidence of interspecies transmission and reassortment among avian group A rotaviruses. **Virology**, v. 386, n. 2, p. 334–343, 10 abr. 2009.

SHEN, S.; BURKE, B.; DESSELBERGER, U. Rearrangement of the VP6 gene of a group A rotavirus in combination with a point mutation affecting trimer stability. **Journal of Virology**, v. 68, n. 3, p. 1682–1688, mar. 1994.

SHI, H.; CHEN, J.; LI, H.; SUN, D.; WANG, C.; FENG, L. Molecular characterization of a rare G9P[23] porcine rotavirus isolate from China. **Archives of Virology**, v. 157, n. 10, p. 1897–1903, out. 2012.

SHI, S. T.; SCHILLER, J. J.; KANJANAHALUETHAI, A.; BAKER, S. C.; OH, J. W.; LAI, M. M. Colocalization and membrane association of murine hepatitis virus gene 1 products and De novo-synthesized viral RNA in infected cells. **Journal of Virology**, v. 73, n. 7, p. 5957–5969, jul. 1999.

SHI, Z. Bat and virus. **Protein & Cell**, v. 1, n. 2, p. 109–114, fev. 2010.

SHIRATO, K.; KAWASE, M.; WATANABE, O.; HIROKAWA, C.; MATSUYAMA, S.; NISHIMURA, H.; TAGUCHI, F. Differences in neutralizing antigenicity between laboratory and clinical isolates of HCoV-229E isolated in Japan in 2004-2008 depend on the S1 region sequence of the spike protein. **The Journal of General Virology**, v. 93, n. 9, p. 1908–1917, set. 2012a.

SHIRATO, K.; MAEDA, K.; TSUDA, S.; SUZUKI, K.; WATANABE, S.; SHIMODA, H.; UEDA, N.; IHA, K.; TANIGUCHI, S.; KYUWA, S.; ENDOH, D.; MATSUYAMA, S.; KURANE I, SAIJO M, MORIKAWA S, YOSHIKAWA Y, AKASHI H.; MIZUTANI, T. Detection of bat coronaviruses from *Miniopterus fuliginosus* in Japan. **Virus Genes**, v. 44, n. 1, p. 40–44, fev. 2012b.

SILVA, F. D. F.; TONIETTI, P. O.; ESPINOZA, L. R. L.; BRANDÃO, P. E.; RICHTZENHAIN, L. J.; GREGORI, F. Development of primers for sequencing the NSP1, NSP3, and VP6 genes of the group A porcine rotavirus. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 901, 28 abr. 2014.

SIMMONS, N. B. Order Chiroptera. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. (Ed.). **Mammals species of the world: a taxonomic and geographic reference**. 3a. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. p. 3125–3529.

SMALL, C.; BARRO, M.; BROWN, T. L.; PATTON, J. T. Genome heterogeneity of SA11 rotavirus due to reassortment with “O” agent. **Virology**, v. 359, n. 2, p. 415–424, 15 mar. 2007.

SOLBERG, O. D.; HASING, M. E.; TRUEBA, G.; EISENBERG, J. N. Characterization of novel VP7, VP4, and VP6 genotypes of a previously untypeable group A rotavirus. **Virology**, v. 385, n. 1, p. 58–67, 1 mar. 2009.

STEPHENSON, C. B.; CASEBOLT, D. B.; GANGOPADHYAY, N. N. Phylogenetic analysis of a highly conserved region of the polymerase gene from 11 coronaviruses and development of a consensus polymerase chain reaction assay. **Virus Research**, v. 60, n. 2, p. 181–189, abr. 1999.

STEYER, A.; POLJSK-PRIJATELJ, M.; BARLIC-MAGANJA, D.; MARIN, J. Human, porcine and bovine rotaviruses in Slovenia: evidence of interspecies transmission and genome reassortment. **The Journal of General Virology**, v. 89, n. 7, p. 1690–1698, jul. 2008.

SUBISSI, L.; IMBERT, I.; FERRON, F.; COLLET, A.; COUTARD, B.; DECROLY, E.; CANARD, B. SARS-CoV ORF1b-encoded nonstructural proteins 12-16: replicative enzymes as antiviral targets. **Antiviral Research**, v. 101, p. 122–130, jan. 2014.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, dez. 2013.

TANG, X. C.; ZHANG, J. X.; ZHANG, S. Y.; WANG, P.; FAN, X. H.; LI, L. F.; LI, G.; DONG, B. Q.; LIU, W.; CHEUNG, C. L.; XU, K. M.; SONG, W. J.; VIJAYKRISHNA, D.; POON, L. L.; PEIRIS, J. S.; SMITH, G. J.; CHEN, H.; GUAN, Y. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. **Journal of Virology**, v. 80, n. 15, p. 7481–7490, ago. 2006.

TANIGUCHI, K.; URASAWA, S. Diversity in rotavirus genomes. **Seminars in Virology**, v. 6, n. 2, p. 123–131, abr. 1995.

TANIGUCHI, K.; URASAWA, T.; PONGSUWANNA, Y.; CHOONTHANOM, M.; JAYAVASU, C.; URASAWA, S. Molecular and antigenic analyses of serotypes 8 and 10 of bovine rotaviruses in Thailand. **The Journal of General Virology**, v. 72, n. 12, p. 2929–2937, dez. 1991.

TANIGUCHI, K.; URASAWA, T.; URASAWA, S. Independent segregation of the VP4 and the VP7 genes in bovine rotaviruses as confirmed by VP4 sequence analysis of G8 and G10 bovine rotavirus strains. **The Journal of General Virology**, v. 74, n. 6, p. 1215–1221, jun. 1993.

TARAPOREWALA, Z.; CHEN, D.; PATTON, J. T. Multimers formed by the rotavirus nonstructural protein NSP2 bind to RNA and have nucleoside triphosphatase activity. **Journal of Virology**, v. 73, n. 12, p. 9934–9943, dez. 1999.

TARAPOREWALA, Z. F.; PATTON, J. T. Identification and characterization of the helix-destabilizing activity of rotavirus nonstructural protein NSP2. **Journal of Virology**, v. 75, n. 10, p. 4519–4527, maio 2001.

TAYLOR, J. A.; O'BRIEN, J. A.; YEAGER, M. The cytoplasmic tail of NSP4, the endoplasmic reticulum-localized non-structural glycoprotein of rotavirus, contains distinct virus binding and coiled coil domains. **The EMBO Journal**, v. 15, n. 17, p. 4469–4476, 2 set. 1996.

TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 356, n. 1411, p. 983–989, 29 jul. 2001.

TEELING, E. C.; SPRINGER, M. S.; MADSEN, O.; BATES, P.; O'BRIEN, S. J.; MURPHY, W. J. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. **Science (New York, N.Y.)**, v. 307, n. 5709, p. 580–584, 28 jan. 2005.

THIEL, V.; HEROLD, J.; SCHELLE, B.; SIDDELL, S. G. Infectious RNA transcribed in vitro from a cDNA copy of the human coronavirus genome cloned in vaccinia virus. **The Journal of General Virology**, v. 82, n. 6, p. 1273–1281, jun. 2001.

TIMENETSKY, M. C.; SANTOS, N.; GOUVEA, V. Survey of rotavirus G and P types associated with human gastroenteritis in São Paulo, Brazil, from 1986 to 1992. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 10, p. 2622–2624, out. 1994.

TONG, S.; CONRARDY, C.; RUONE, S.; KUZMIN, I. V.; GUO, X.; TAO, Y.; NIEZGODA, M.; HAYNES, L.; AGWANDA, B.; BREIMAN, R. F.; ANDERSON, L. J.; RUPPRECHT, C. E. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 3, p. 482–485, mar. 2009.

TONIETTI, P. O.; HORA, A. S.; SILVA, F. D.; RUIZ, V. L.; GREGORI, F. Phylogenetic analyses of the VP4 and VP7 genes of porcine group A rotaviruses in Sao Paulo State, Brazil: first identification of G5P[23] in piglets. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 8, p. 2750–2753, ago. 2013.

TORT, L. F. L.; VOLOTÃO EDE, M.; DE MENDONÇA, M. C.; DA SILVA, M. F.; SIQUEIRA, A. A.; ASSIS, R. M.; MORATORIO, G.; CRISTINA, J.; LEITE, J. P. Phylogenetic analysis of human P[8]G9 rotavirus strains circulating in Brazil reveals the presence of a novel genetic variant. **Journal of Clinical Virology**, v. 47, n. 4, p. 345–355, abr. 2010.

TOWNER, J. S.; POURRUT, X.; ALBARIÑO, C. G.; NKOUE, C. N.; BIRD, B. H.; GRARD, G.; KSIAZEK, T. G.; GONZALEZ, J. P.; NICHOL, S. T.; LEROY, E. M. Marburg virus infection detected in a common African bat. **PloS One**, v. 2, n. 8, p. e764, jan. 2007.

TROJNAR, E.; SACHSENRODER, J.; TWARDZIOK, S.; REETZ, J.; OTTO, P. H.; JOHNE, R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. **The Journal of General Virology**, v. 94, n. 1, p. 136–142, jan. 2013.

TROJNAR, E.; OTTO, P.; JOHNE, R. The first complete genome sequence of a chicken group A rotavirus indicates independent evolution of mammalian and avian strains. **Virology**, v. 386, n. 2, p. 325–333, 10 abr. 2009.

TSUDA, S.; WATANABE, S.; MASANGKAY, J. S.; MIZUTANI, T.; ALVIOLA, P.; UEDA, N.; IHA, K.; TANIGUCHI, S.; FUJII, H.; KATO, K.; HORIMOTO, T.; KYUWA, S.; YOSHIKAWA, Y.; AKASHI, H. Genomic and serological detection of bat coronavirus from bats in the Philippines. **Archives of Virology**, v. 157, n. 12, p. 2349–2355, dez. 2012.

TSUGAWA, T.; HOSHINO, Y. Whole genome sequence and phylogenetic analyses reveal human rotavirus G3P[3] strains Ro1845 and HCR3A are examples of direct virion transmission of canine/feline rotaviruses to humans. **Virology**, v. 380, n. 2, p. 344–353, 25 out. 2008.

UIEDA, W.; HAYASHI, M. M.; GOMES, L. H.; SILVA, M. M. S. Espécies de quirópteros diagnosticadas com raiva no Brasil. **Boletim do Instituto Pasteur**, v. 2, n. 1, p. 17–36, 1996.

URSU, K.; KISFALI, P.; RIGÓ, D.; IVANICS, E.; ERDÉLYI, K.; DÁN, A.; MELEGH, B.; MARTELLA, V.; BÁNYAI, K. Molecular analysis of the VP7 gene of pheasant rotaviruses identifies a new genotype, designated G23. **Archives of Virology**, v. 154, n. 8, p. 1365–1369, jan. 2009.

VAN DER HOEK, L.; PYRC, K.; JEBBINK, M. F.; VERMEULEN-OOST, W.; BERKHOUT, R. J.; WOLTERS, K. C.; WERTHEIM-VAN DILLEN, P. M.; KAANDORP, J.; SPAARGAREN, J.; BERKHOUT, B. Identification of a new human coronavirus. **Nature Medicine**, v. 10, n. 4, p. 368–373, abr. 2004.

VARGHESE, V.; DAS, S.; SINGH, N. B.; KOJIMA, K.; BHATTACHARYA, S. K.; KRISHNAN, T.; KOBAYASHI, N.; NAIK, T. N. Molecular characterization of a human rotavirus reveals porcine characteristics in most of the genes including VP6 and NSP4. **Archives of Virology**, v. 149, n. 1, p. 155–172, jan. 2004.

VASQUEZ-DEL CARPIO, R.; GONZALEZ-NILO, F. D.; RIADI, G.; TARAPOREWALA, Z. F.; PATTON, J. T. Histidine triad-like motif of the rotavirus NSP2 octamer mediates both RTPase and NTPase activities. **Journal of Molecular Biology**, v. 362, n. 3, p. 539–554, 22 set. 2006.

VIJAYKRISHNA, D.; SMITH, G. J.; ZHANG, J. X.; PEIRIS, J. S.; CHEN, H.; GUAN, Y. Evolutionary insights into the ecology of coronaviruses. **Journal of Virology**, v. 81, n. 8, p. 4012–4020, abr. 2007.

VIJGEN, L.; KEYAERTS, E.; LEMEY, P.; MAES, P.; VAN REETH, K.; NAUWYNCK, H.; PENSAERT, M.; VAN RANST, M. Evolutionary history of the closely related group 2 coronaviruses: porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus, bovine coronavirus, and human coronavirus OC43. **Journal of Virology**, v. 80, n. 14, p. 7270–7274, jul. 2006.

VIJGEN, L.; KEYAERTS, E.; MOËS, E.; THOLEN, I.; WOLLANTS, E.; LEMEY, P.; VANDAMME, A. M.; VAN RANST, M. Complete genomic sequence of human coronavirus OC43: molecular clock analysis suggests a relatively recent zoonotic coronavirus transmission event. **Journal of Virology**, v. 79, n. 3, p. 1595–1604, fev. 2005.

VIJGEN, L.; MOËS, E.; KEYAERTS, E.; LI, S.; VAN RANST, M. A pancoronavirus RT-PCR assay for detection of all known coronaviruses. **Methods in Molecular Miology**, v. 454, p. 3–12, jan. 2008.

VISKOVSKA, M.; ANISH, R.; HU, L.; CHOW, D. C.; HURWITZ, A. M.; BROWN, N. G.; PALZKILL, T.; ESTES, M. K.; PRASAD, B. V. Probing the sites of interactions of rotaviral proteins involved in replication. **Journal of Virology**, v. 88, n. 21, p. 12866–12881, nov. 2014.

WANG, L.-F.; WALKER, P. J.; POON, L. L. M. Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats “special” as reservoirs for emerging viruses? **Current Opinion in Virology**, v. 1, n. 6, p. 649–657, dez. 2011.

WATANABE, S.; MASANGKAY, J. S.; NAGATA, N.; MORIKAWA, S.; MIZUTANI, T.; FUKUSHI, S.; ALVIOLA, P.; OMATSU, T.; UEDA, N.; IHA, K.; TANIGUCHI, S.; FUJII, H.; TSUDA, S.; ENDOH, M.; KATO, K.; TOHYA, Y.; KYUWA, S.; YOSHIKAWA, Y.; AKASHI, H. Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 8, p. 1217–1223, ago. 2010.

WEISS, S. R.; NAVAS-MARTIN, S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 69, n. 4, p. 635–664, dez. 2005.

WILKINSON, G. S. Social grooming in the common vampire bat, *Desmodus rotundus*. **Animal Behaviour**, v. 34, n. 6, p. 1880–1889, dez. 1986.

WILLIAMS, R. K.; JIANG, G. S.; HOLMES, K. V. Receptor for mouse hepatitis virus is a member of the carcinoembryonic antigen family of glycoproteins. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, n. 13, p. 5533–5536, 1991.

WONG, S.; LAU, S.; WOO, P.; YUEN, K. Y. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. **Reviews in Medical Virology**, v. 17, n. 2, p. 67–91, 2010.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K.; CHU, C. M.; CHAN, K. H.; TSOI, H. W.; HUANG, Y.; WONG, B. H.; POON, R. W.; CAI, J. J.; LUK, W. K.; POON, L. L.; WONG, S. S.; GUAN, Y.; PEIRIS, J. S.; YUEN, K. Y. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. **Journal of Virology**, v. 79, n. 2, p. 884–895, jan. 2005.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K.; HUANG, Y.; YUEN, K. Y. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. **Experimental Biology and Medicine**, v. 234, n. 10, p. 1117–1127, out. 2009a.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K.; LAM, C. S.; LAI, K. K.; HUANG, Y.; LEE, P.; LUK, G. S.; DYRTING, K. C.; CHAN, K. H.; YUEN, K. Y. Comparative analysis of complete genome sequences of three avian coronaviruses reveals a novel group 3c coronavirus. **Journal of Virology**, v. 83, n. 2, p. 908–917, jan. 2009b.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K.; LAM, C. S.; LAU, C. C.; TSANG, A. K.; LAU, J. H.; BAI, R.; TENG, J. L.; TSANG, C. C.; WANG, M.; ZHENG, B. J.; CHAN, K. H.; YUEN, K. Y. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. **Journal of Virology**, v. 86, n. 7, p. 3995–4008, abr. 2012.

WOO, P. C. Y.; LAU, S. K.; LI, K. S.; POON, R. W.; WONG, B. H.; TSOI, H. W.; YIP, B. C.; HUANG, Y.; CHAN, K. H.; YUEN, K. Y. Molecular diversity of coronaviruses in bats. **Virology**, v. 351, n. 1, p. 180–187, 20 jul. 2006.

WOO, P. C. Y.; WANG, M.; LAU, S. K.; XU, H.; POON, R. W.; GUO, R.; WONG, B. H.; GAO, K.; TSOI, H. W.; HUANG, Y.; LI, K. S.; LAM, C. S.; CHAN, K. H.; ZHENG, B. J.; YUEN, K. Y. Comparative analysis of twelve genomes of three novel group 2c and group 2d coronaviruses reveals unique group and subgroup features. **Journal of Virology**, v. 81, n. 4, p. 1574–1585, fev. 2007.

WOOLHOUSE, M. E. J. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. **Trends in Microbiology**, v. 10, n. 10, p. S3–7, jan. 2002.

WOOLHOUSE, M. E. J.; GOWTAGE-SEQUERIA, S. Host range and emerging and reemerging pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 12, p. 1842–1847, dez. 2005.

WOOLHOUSE, M. E. J.; HAYDON, D. T.; ANTIA, R. Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 20, n. 5, p. 238–244, maio 2005.

WU, F.T.; BÁNYAI, K.; LIN, J. S.; WU, H. S.; HSIUNG, C. A.; HUANG, Y. C.; HWANG, K. P.; JIANG, B.; GENTSCH, JR. Putative canine origin of rotavirus strain detected in a child with diarrhea, Taiwan. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 2, p. 170–173, fev. 2012a.

WU, Z.; REN, X.; YANG, L.; HU, Y.; YANG, J.; HE, G.; ZHANG, J.; DONG, J.; SUN, L.; DU, J.; LIU, L.; XUE, Y.; WANG, J.; YANG, F.; ZHANG, S.; JIN, Q. Virome analysis for identification of novel mammalian viruses in bat species from Chinese provinces. **Journal of Virology**, v. 86, n. 20, p. 10999–1012, out. 2012b.

WYNNE, J. W.; WANG, L.-F. Bats and viruses: friend or foe? **PLoS Pathogens**, v. 9, n. 10, p. e1003651, out. 2013.

XIA, L.; FAN, Q.; HE, B.; XU, L.; ZHANG, F.; HU, T.; WANG, Y.; LI, N.; QIU, W.; ZHENG, Y.; MATTHIJNSSENS, J.; TU, C. The complete genome sequence of a G3P[10] Chinese bat rotavirus suggests multiple bat rotavirus inter-host species transmission events. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 28, p. 1–4, dez. 2014.

XIAO, J.; LI, J.; HU, G.; CHEN, Z.; WU, Y.; CHEN, Y.; CHEN, Z.; LIAO, Y.; ZHOU, J.; KE, X.; MA, L.; LIU, S.; ZHOU, J.; DAI, Y.; CHEN, H.; YU, S.; CHEN, Q. Isolation and phylogenetic characterization of bat astroviruses in southern China. **Archives of Virology**, v. 156, n. 8, p. 1415–1423, ago. 2011.

ZAKI, A. M.; VAN BOHEEMEN, S.; BESTEBROER, T. M.; OSTERHAUS, A. D.; FOUCHIER, R. A. 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, 8 nov. 2012.

ZENG, C. Q.; ESTES, M. K.; CHARPILLENNE, A.; COHEN, J. The N terminus of rotavirus VP2 is necessary for encapsidation of VP1 and VP3. **Journal of Virology**, v. 72, n. 1, p. 201–208, jan. 1998.

ZENG, Q.; LANGEREIS, M. A.; VAN VLIET, A. L.; HUIZINGA, E. G.; DE GROOT, R. J. Structure of coronavirus hemagglutinin-esterase offers insight into corona and influenza virus evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 26, p. 9065–9069, 1 jul. 2008.

ZHANG, G.; COWLED, C.; SHI, Z.; HUANG, Z.; BISHOP-LILLY, K. A.; FANG, X.; WYNNE, J. W.; XIONG, Z.; BAKER, M. L.; ZHAO, W.; TACHEDJIAN, M.; ZHU, Y.; ZHOU, P.; JIANG, X.; NG, J.; YANG, L.; WU, L.; XIAO, J.; FENG, Y.; CHEN, Y.; SUN, X.; ZHANG, Y.; MARSH, G. A.; CRAMERI, G.; BRODER, C. C.; FREY, K. G.; WANG, L. F.; WANG, J. Comparative analysis of bat genomes provides insight into the evolution of flight and immunity. **Science**, v. 339, n. 6118, p. 456–460, 25 jan. 2013.

ZHANG, M.; ZENG, C. Q.; DONG, Y.; BALL, J. M.; SAIF, L.J.; MORRIS, A. P.; ESTES, M. K. Mutations in rotavirus nonstructural glycoprotein NSP4 are associated with altered virus virulence. **Journal of Virology**, v. 72, n. 5, p. 3666–3672, maio 1998.

ZIEBUHR, J.; SNIJDER, E. J. The coronavirus replicase gene: special enzymes for special viruses. In: THIEL, V. (Ed.). . **Coronaviruses: Molecular and Cellular Biology**. Norfolk: Caister Academic Press, 2007. p. 33–63.

APÊNDICE

Apêndice A - Informações sobre as espécies de quirópteros, local de origem, idade aproximada, sexo e contato com humanos

(continua)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
1276/13	<i>Desmodus rotundus</i>	06/03/2013	Salesópolis	Fêmea	Jovem
1282/13	<i>Desmodus rotundus</i>	06/03/2013	Salesópolis	Fêmea	Adulta
1283/13	<i>Desmodus rotundus</i>	06/03/2013	Salesópolis	Fêmea	Adulta
2598/13	<i>Desmodus rotundus</i>	23/05/2013	Espírito Santo do Pinhal	Macho	Adulto
2600/13	<i>Desmodus rotundus</i>	23/05/2013	Espírito Santo do Pinhal	Fêmea	Adulta
3082/13	<i>Desmodus rotundus</i>	19/06/2013	Espírito Santo do Pinhal	Fêmea	Adulta
3796/13	<i>Desmodus rotundus</i>	25/07/2013	Tatuí	Fêmea	Adulta
4292/13	<i>Desmodus rotundus</i>	20/08/2013	Campinas	Fêmea	Jovem
2804/13	<i>Artibeus lituratus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2806/13	<i>Eumops glauciunus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
2817/13	<i>Artibeus lituratus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2824/13	<i>Eumops glauciunus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
2833/13	<i>Artibeus lituratus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2834/13	<i>Artibeus lituratus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2836/13	<i>Artibeus lituratus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2840/13	<i>Eumops glauciunus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
2841/13	<i>Eumops glauciunus</i>	06/06/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2887/13	<i>Artibeus lituratus</i>	07/06/2013	Campinas	Macho	Adulto
2888/13	<i>Artibeus lituratus</i>	07/06/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
2892/13	<i>Artibeus lituratus</i>	07/06/2013	Campinas	Macho	Adulto
2895/13	<i>Artibeus lituratus</i>	07/06/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
3548/13	<i>Molossus rufus</i>	12/07/2013	Paulínia	Macho	Jovem
3571/13	<i>Glossophaga soricina</i>	16/07/2013	Santos	Fêmea	Adulta
3630/13	<i>Molossus molossus</i>	16/07/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
3645/13	<i>Artibeus lituratus</i>	17/07/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
3647/13	<i>Glossophaga soricina</i>	16/07/2013	Franca	Macho	Adulto
4110/13	<i>Myotis nigricans</i>	07/08/2013	Mogi das Cruzes	Macho	Jovem
4118/13	<i>Glossophaga soricina</i>	07/08/2013	Sertãozinho	Macho	Adulto
4121/13	<i>Molossus molossus</i>	07/08/2013	Sertãozinho	Macho	Jovem
4122/13	<i>Molossus molossus</i>	07/08/2013	Sertãozinho	Macho	Jovem
4142/13	<i>Cynomops planirostris</i>	08/08/2013	Campinas	Macho	Jovem
4144/13	<i>Myotis albescens</i>	08/08/2013	Campinas	Fêmea	Jovem
4146/13	<i>Molossus molossus</i>	08/08/2013	Campinas	Macho	Jovem
4153/13	<i>Eumops perotis</i>	08/08/2013	Américo Brasiliense	Macho	Jovem
4166/13	<i>Glossophaga soricina</i>	09/08/2013	Arujá	Macho	Adulto

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
4190/13	<i>Glossophaga soricina</i>	13/08/2013	Caraguatatuba	Fêmea	Jovem
4210/13	<i>Eumops glaucinus</i>	14/08/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4211/13	<i>Eumops glaucinus</i>	14/08/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4285/13	<i>Glossophaga soricina</i>	20/08/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
4313/13	<i>Myotis nigricans</i>	20/08/2013	Jarinu	Fêmea	Adulta
4348/13	<i>Eumops perotis</i>	22/08/2013	Jardinópolis	Macho	Jovem
4377/13	<i>Molossus molossus</i>	22/08/2013	Espírito Santo do Pinhal	Macho	Jovem
4449/13	<i>Eumops perotis</i>	27/08/2013	Colina	Macho	Jovem
4451/13	<i>Molossus rufus</i>	27/08/2013	Colina	Macho	Jovem
4473/13	<i>Myotis nigricans</i>	29/08/2013	Ribeirão Pires	Fêmea	Adulta
4475/13	<i>Phyllostomus discolor</i>	29/08/2013	Rio Claro	Macho	Jovem
4489/13	<i>Molossus molossus</i>	29/08/2013	Olímpia	Fêmea	Jovem
4491/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	29/08/2013	São João da Boa Vista	Fêmea	Jovem
4498/13	<i>Molossus molossus</i>	30/08/2013	Monguagá	Macho	Adulto
4503/13	<i>Molossus molossus</i>	30/08/2013	Bauru	Macho	Adulto
4528/13	<i>Eumops perotis</i>	02/09/2013	Campinas	Fêmea	Jovem
4529/13	<i>Phyllostomus discolor</i>	02/09/2013	Campinas	Fêmea	Jovem
4530/13	<i>Artibeus lituratus</i>	02/09/2013	Campinas	Macho	Adulto
4532/13	<i>Artibeus lituratus</i>	02/09/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
4539/13	<i>Cynomops planirostris</i>	02/09/2013	Campinas	Macho	Jovem
4540/13	<i>Eumops perotis</i>	02/09/2013	Campinas	Macho	Jovem
4545/13	<i>Glossophaga soricina</i>	03/09/2013	Jaboticabal	Macho	Jovem
4615/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4616/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4617/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
4618/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4619/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4620/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4621/13	<i>Eumops perotis</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4622/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4623/13	<i>Glossophaga soricina</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4624/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4625/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4626/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4627/13	<i>Eumops glaucinus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4628/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
4629/13	<i>Eumops glaucinus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
4630/13	<i>Eumops glaucinus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
4631/13	<i>Myotis nigricans</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4632/13	<i>Molossus molossus</i>	11/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4660/13	<i>Diphylla ecaudata</i>	13/09/2013	Motuca	Fêmea	Adulta
4682/13	<i>Myotis nigricans</i>	16/09/2013	Campinas	Fêmea	Adulta

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
4683/13	<i>Myotis nigricans</i>	16/09/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
4695/13	<i>Desmodus rotundus</i>	17/09/2013	Campinas	Macho	Adulto
4702/13	<i>Cynomops abrasus</i>	17/09/2013	Campinas	Macho	Jovem
4704/13	<i>Molossus molossus</i>	17/09/2013	Campinas	Fêmea	Jovem
4705/13	<i>Cynomops abrasus</i>	17/09/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
4722/13	<i>Molossus molossus</i>	18/09/2013	Diadema	Macho	Adulto
4728/13	<i>Myotis nigricans</i>	20/09/2013	São Bernardo do Campo	Macho	Adulto
4734/13	<i>Molossus molossus</i>	20/09/2013	Indaiatuba	Fêmea	Jovem
4745/13	<i>Molossus molossus</i>	20/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4747/13	<i>Phyllostomus discolor</i>	20/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4748/13	<i>Cynomops abrasus</i>	20/09/2013	Franca	Fêmea	Jovem
4750/13	<i>Molossus molossus</i>	20/09/2013	Paulínia	Fêmea	Jovem
4754/13	<i>Molossus molossus</i>	20/09/2013	Águas de Lindóia	Fêmea	Adulta
4761/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Macho	Jovem
4762/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Jovem
4763/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Adulta
4764/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Adulta
4765/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Jovem
4766/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	24/09/2013	Vinhedo	Fêmea	Jovem
4793/13	<i>Artibeus lituratus</i>	25/09/2013	Guarujá	Fêmea	Adulta
4794/13	<i>Molossus molossus</i>	25/09/2013	Guarujá	Macho	Adulto
4798/13	<i>Molossus molossus</i>	25/09/2013	Jaguariúna	Fêmea	Adulta
4801/13	<i>Molossus molossus</i>	25/09/2013	Diadema	Fêmea	Jovem
4814/13	<i>Molossus molossus</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4815/13	<i>Molossus molossus</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4817/13	<i>Eumops perotis</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4818/13	<i>Molossus molossus</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4819/13	<i>Eumops glaucinus</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
4820/13	<i>Artibeus lituratus</i>	26/09/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4839/13	<i>Glossophaga soricina</i>	26/09/2013	Valinhos	Macho	Adulto
4840/13	<i>Molossus rufus</i>	26/09/2013	Valinhos	Macho	Jovem
4841/13	<i>Molossus rufus</i>	26/09/2013	Valinhos	Macho	Adulto
4850/13	<i>Molossus rufus</i>	26/09/2013	Votorantim	Macho	Jovem
4855/13	<i>Eptesicus sp</i>	26/09/2013	Sertãozinho	...	Filhote
4867/13	<i>Artibeus lituratus</i>	27/09/2013	Araraquara	Fêmea	Adulta
4868/13	<i>Artibeus lituratus</i>	27/09/2013	Araraquara	Fêmea	Adulta
4869/13	<i>Molossus molossus</i>	27/09/2013	Araraquara	Fêmea	Jovem
4870/13	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	27/09/2013	Araraquara	Fêmea	Jovem
4873/13	<i>Molossus molossus</i>	27/09/2013	Araraquara	Macho	Jovem
4877/13	<i>Artibeus lituratus</i>	27/09/2013	Nova Odessa	Fêmea	Adulta
4878/13	<i>Glossophaga soricina</i>	27/09/2013	Nova Odessa	Macho	Adulto
4879/13	<i>Artibeus lituratus</i>	27/09/2013	Nova Odessa	Macho	Adulto
4887/13	<i>Glossophaga soricina</i>	30/09/2013	Mauá	Macho	Adulto

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
4906/13	<i>Glossophaga soricina</i>	01/10/2013	São Bernardo do Campo	Macho	Adulto
4927/13	<i>Molossus rufus</i>	02/10/2013	Mogi das Cruzes	Macho	Adulto
4928/13	<i>Molossus rufus</i>	02/10/2013	Mogi das Cruzes	Macho	Jovem
4940/13	<i>Eumops glaucinus</i>	02/10/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
4941/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	02/10/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4944/13	<i>Eumops glaucinus</i>	02/10/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
4945/13	<i>Cynomops planirostris</i>	02/10/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
4960/13	<i>Desmodus rotundus</i>	02/10/2013	Campinas	Macho	Jovem
4963/13	<i>Myotis sp</i>	03/10/2013	Campinas	Macho	Filhote
4969/13	<i>Desmodus rotundus</i>	03/10/2013	Campinas	Macho	Adulto
4994/13	<i>Eumops glaucinus</i>	04/10/2013	Bauru	Fêmea	Jovem
5026/13	<i>Cynomops abrasus</i>	09/10/2013	Valinhos	Fêmea	Jovem
5045/13	<i>Cynomops abrasus</i>	10/10/2013	São Carlos	Fêmea	Jovem
5077/13	<i>Molossus molossus</i>	15/10/2013	Campinas	Macho	Adulto
5090/13	<i>Myotis nigricans</i>	15/10/2013	Campinas	Macho	Adulto
5091/13	<i>Glossophaga soricina</i>	15/10/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
5093/13	<i>Molossus rufus</i>	15/10/2013	Campinas	Fêmea	Filhote
5096/13	<i>Histiotus velatus</i>	15/10/2013	Campinas	Macho	Jovem
5118/13	<i>Eumops glaucinus</i>	16/10/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
5123/13	<i>Molossus molossus</i>	16/10/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
5138/13	<i>Glossophaga soricina</i>	18/10/2013	Santo André	Macho	Adulto
5156/13	<i>Molossus molossus</i>	22/10/2013	Vinhedo	Macho	Jovem
5165/13	<i>Glossophaga soricina</i>	23/10/2013	Caçapava	Fêmea	Adulta
5174/13	<i>Desmodus rotundus</i>	23/10/2013	Campinas	Macho	Adulto
5223/13	<i>Eumops glaucinus</i>	24/10/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
5224/13	<i>Molossus molossus</i>	24/10/2013	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
5311/13	<i>Artibeus lituratus</i>	31/10/2013	Campinas	Macho	Jovem
5324/13	<i>Artibeus lituratus</i>	31/10/2013	Campinas	Macho	Jovem
5409/13	<i>Molossus rufus</i>	01/11/2013	Tupã	Macho	Jovem
5440/13	<i>Molossus rufus</i>	06/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Filhote
5446/13	<i>Myotis albescens</i>	06/11/2013	Ribeirão Preto	Macho	Filhote
5447/13	<i>Eumops glaucinus</i>	06/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
5501/13	<i>Eptesicus furinalis</i>	08/11/2013	Campinas	Macho	Adulto
5511/13	<i>Glossophaga soricina</i>	08/11/2013	Riberião Pires	Macho	Adulto
5512/13	<i>Anoura caudifer</i>	08/11/2013	Riberião Pires	Macho	Adulto
5527/13	<i>Myotis albescens</i>	12/11/2013	Monte Mor	Macho	Jovem
5537/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Fêmea	Jovem
5538/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Fêmea	Filhote
5539/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Filhote
5540/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Jovem
5541/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Jovem
5542/13	<i>Lasiurus sp</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Fêmea	Filhote

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
5543/13	<i>Lasiurus sp</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Filhote
5544/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Filhote
5545/13	<i>Lasiurus sp</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Macho	Filhote
5548/13	<i>Lasiurus sp</i>	12/11/2013	Santana da Ponte Pensa	Fêmea	Filhote
5575/13	<i>Lasiurus blossevillii</i>	13/11/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
5617/13	<i>Molossus molossus</i>	19/11/2013	Monte Mor	Macho	Adulto
5603/13	<i>Molossus molossus</i>	13/11/2013	Paulínia	Fêmea	Adulta
5605/13	<i>Molossus molossus</i>	13/11/2013	Paulínia	Macho	Filhote
5619/13	<i>Molossus rufus</i>	19/11/2013	Pindorama	Macho	Jovem
5630/13	<i>Eumops glaucinus</i>	14/11/2013	Serrana	Macho	Adulto
5636/13	<i>Molossus rufus</i>	19/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
5638/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	19/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Jovem
5640/13	<i>Glossophaga soricina</i>	19/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
5641/13	<i>Molossus molossus</i>	19/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
5670/13	<i>Molossus molossus</i>	21/11/2013	Tatuí	Macho	Adulto
5710/13	<i>Epitesicus furinalis</i>	22/11/2013	Gália	Macho	Adulto
5730/13	<i>Lasiurus cinereus</i>	26/11/2013	Olímpia	Fêmea	Adulta
5741/13	<i>Epitesicus diminutus</i>	27/11/2013	Itapira	Fêmea	Jovem
5780/13	<i>Molossus molossus</i>	28/11/2013	Araraquara	Fêmea	Filhote
5804/13	<i>Molossus molossus</i>	28/11/2013	Campinas	Macho	Filhote
5817/13	<i>Desmodus rotundus</i>	28/11/2013	Santos	Macho	Adulto
5822/13	<i>Molossus molossus</i>	28/11/2013	Itapecerica da Serra	Fêmea	Adulta
5833/13	<i>Molossus molossus</i>	29/11/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
5850/13	<i>Eumops glaucinus</i>	29/11/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
5862/13	<i>Glossophaga soricina</i>	29/11/2013	São Bernardo do Campo	Fêmea	Adulta
5887/13	<i>Eumops glaucinus</i>	29/11/2013	Itatiba	Macho	Adulto
5891/13	<i>Eumops glaucinus</i>	29/11/2013	Caçapava	Fêmea	Adulta
6015/13	<i>Molossus molossus</i>	05/12/2013	Valinhos	Macho	Adulto
6018/13	<i>Molossus rufus</i>	05/12/2013	São Bernardo do Campo	Fêmea	Filhote
6019/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	05/12/2013	São Bernardo do Campo	Macho	Jovem
6032/13	<i>Molossus molossus</i>	06/12/2013	Campinas	Macho	Adulto
6034/13	<i>Molossus molossus</i>	06/12/2013	Campinas	Macho	Filhote
6138/13	<i>Epitesicus furinalis</i>	12/12/2013	Palmeira d'oeste	Macho	Adulto
6066/13	<i>Epitesicus furinalis</i>	06/12/2013	Bauru	Fêmea	Adulta
6159/13	<i>Molossus molossus</i>	13/12/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
6183/13	<i>Cynomops planirostris</i>	16/12/2013	Itapira	Macho	Adulto
6190/13	<i>Cynomops planirostris</i>	16/12/2013	Itapira	Fêmea	Adulta
6253/13	<i>Molossus molossus</i>	18/12/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
6260/13	<i>Eumops perotis</i>	18/12/2013	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
6326/13	<i>Myotis nigricans</i>	19/12/2013	Campinas	Fêmea	Adulta
6353/13	<i>Cynomops planirostris</i>	19/12/2013	Campinas	Macho	Adulto
6457/13	<i>Molossus molossus</i>	27/12/2013	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
295/14	<i>Phyllostomus hastatus</i>	16/01/2014	Caraguatatuba	Macho	Adulto
521/14	<i>Desmodus rotundus</i>	31/01/2014	Campinas	Macho	Adulto
522/14	<i>Desmodus rotundus</i>	31/01/2014	Campinas	Macho	Adulto
523/14	<i>Desmodus rotundus</i>	31/01/2014	Campinas	Macho	Adulto
544/14	<i>Artibeus obscurus</i>	31/01/2014	Tupa	Macho	Jovem
565/14	<i>Histiotus velatus</i>	03/02/2014	Jacareí	Macho	Adulto
566/14	<i>Pygoderma bilabiatum</i>	03/02/2014	Jacareí	Macho	Jovem
569/14	<i>Desmodus rotundus</i>	04/02/2014	Mococa	Fêmea	Jovem
571/14	<i>Desmodus rotundus</i>	04/02/2014	Mococa	Macho	Adulto
572/14	<i>Desmodus rotundus</i>	04/02/2014	Mococa	Macho	Adulto
672/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
673/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Macho	Adulto
674/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
675/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Macho	Adulto
676/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
678/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
679/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
680/14	<i>Desmodus rotundus</i>	11/02/2014	Tupã	Fêmea	Adulta
683/14	<i>Desmodus rotundus</i>	12/02/2014	Iacri	Macho	Adulto
684/14	<i>Desmodus rotundus</i>	12/02/2014	Iacri	Fêmea	Adulta
686/14	<i>Desmodus rotundus</i>	12/02/2014	Iacri	Fêmea	Jovem
685/14	<i>Desmodus rotundus</i>	12/02/2014	Iacri	Fêmea	Jovem
744/14	<i>Molossus sp</i>	18/02/2014	Itatiba	Macho	Filhote
755/14	<i>Molossus sp</i>	19/02/2014	Ribeirão Preto	Fêmea	Filhote
704/14	<i>Carollia perspicillata</i>	14/02/2014	Leme	Macho	Adulto
1121/14	<i>Desmodus rotundus</i>	20/03/2014	Rio claro	Macho	Adulto
3081/13	<i>Glossophaga soricina</i>	19/06/2013	Espirito Santo do Pinhal	Macho	Adulto
3086/13	<i>Molossus molossus</i>	20/06/2013	Marília	Macho	Adulto
3832/13	<i>Cynomops planirostris</i>	26/07/2013	Campinas	Macho	Jovem
3841/13	<i>Glossophaga soricina</i>	26/07/2013	Sumaré	Fêmea	Adulta
3844/13	<i>Glossophaga soricina</i>	29/07/2013	Barueri	Macho	Adulto
3846/13	<i>Molossus rufus</i>	29/07/2013	Jacareí	Fêmea	Adulta
3847/13	<i>Glossophaga soricina</i>	29/07/2013	Jacareí	Fêmea	Adulta
3848/13	<i>Glossophaga soricina</i>	29/07/2013	Jacareí	Macho	Adulto
3850/13	<i>Molossus molossus</i>	30/07/2013	Capivari	Macho	Adulto
3889/13	<i>Molossus molossus</i>	31/07/2013	Araraquara	Macho	Adulto
3892/13	<i>Molossus rufus</i>	31/07/2013	Araraquara	Fêmea	Jovem
3894/13	<i>Artibeus lituratus</i>	31/07/2013	Araraquara	Macho	Adulto
3895/13	<i>Eptesicus furinalis</i>	31/07/2013	Araraquara	Macho	Adulto
3898/13	<i>Nyctinomops laticaudatus</i>	31/07/2013	Araraquara	Macho	Adulto
3899/13	<i>Glossophaga soricina</i>	31/07/2013	Araraquara	Fêmea	Adulta
3921/13	<i>Artibeus lituratus</i>	31/07/2013	Cosmópolis	Fêmea	Adulta

(continuação)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
3936/13	<i>Eumops perotis</i>	31/07/2013	Franca	Macho	Adulta
1248/14	<i>Artibeus lituratus</i>	31/03/2014	Santos	Fêmea	Jovem
1267/14	<i>Molossus molossus</i>	01/04/2014	Tupã	Macho	Jovem
1292/14	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	02/04/2014	Mogi das Cruzes	Macho	Adulto
1312/14	<i>Eumops perotis</i>	04/04/2014	Boa Esperança do Sul	Macho	Adulto
1318/14	<i>Eumops glaucinus</i>	04/04/2014	São João da Boa Vista	Macho	Adulto
1342/14	<i>Tadarida brasiliensis</i>	09/04/2014	Mogi das Cruzes	Fêmea	Adulta
1343/14	<i>Molossus molossus</i>	09/04/2014	Cerquilha	Macho	Adulto
1373/14	<i>Histiotus velatus</i>	09/04/2014	São Caetano do Sul	Fêmea	Adulta
1376/14	<i>Eumops glaucinus</i>	10/04/2014	Ariranha	Macho	Adulto
1379/14	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	10/04/2014	Valinhos	Macho	Adulto
1400/14	<i>Artibeus lituratus</i>	11/04/2014	São Bernardo do Campo	Macho	Adulto
1413/14	<i>Eumops perotis</i>	15/04/2014	São Carlos	Macho	Adulto
1436/14	<i>Eumops glaucinus</i>	16/04/2014	Cerquilha	Fêmea	Adulta
1447/14	<i>Molossus molossus</i>	17/04/2014	Itapira	Fêmea	Adulta
1469/14	<i>Eumops glaucinus</i>	24/04/2014	Guariba	Fêmea	Adulta
1470/14	<i>Molossus rufus</i>	24/04/2014	Guariba	Macho	Adulto
1503/14	<i>Desmodus rotundus</i>	25/04/2014	Franca	Fêmea	Adulta
1594/14	<i>Lasiurus ega</i>	07/05/2014	Limeira	Fêmea	Adulta
1604/14	<i>Glossophaga soricina</i>	06/05/2014	Amparo	Fêmea	Adulta
1609/14	<i>Glossophaga soricina</i>	07/05/2014	Americana	Fêmea	Adulta
1611/14	<i>Molossus molossus</i>	07/05/2014	Americana	Macho	Adulto
1617/14	<i>Molossus molossus</i>	08/05/2014	Paulínia	Macho	Adulto
1619/14	<i>Molossus molossus</i>	09/05/2014	Santa Fé do Sul	Macho	Adulto
1620/14	<i>Molossus molossus</i>	09/05/2014	Santa Fé do Sul	Macho	Adulto
1621/14	<i>Molossus molossus</i>	09/05/2014	Santa Fé do Sul	Macho	Adulto
1662/14	<i>Desmodus rotundus</i>	13/05/2014	Rio Claro	Macho	Adulto
1663/14	<i>Desmodus rotundus</i>	13/05/2014	Rio Claro	Fêmea	Adulta
1683/14	<i>Molossus molossus</i>	13/05/2014	Pirassununga	Macho	Adulto
2147/14	<i>Molossus molossus</i>	24/07/2017	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2168/14	<i>Glossophaga soricina</i>	25/06/2014	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2173/14	<i>Cynomops planirostris</i>	25/06/2014	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
2174/14	<i>Eumops glaucinus</i>	25/06/2014	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2178/14	<i>Molossus molossus</i>	25/06/2014	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2189/14	<i>Artibeus lituratus</i>	25/06/2014	Jacaré	Fêmea	Adulta
2191/14	<i>Cynomops planirostris</i>	26/06/2014	Campinas	Macho	Jovem
2192/14	<i>Glossophaga soricina</i>	26/06/2014	Campinas	Fêmea	Adulta
2193/14	<i>Glossophaga soricina</i>	26/06/2014	Campinas	Macho	Adulto
2195/14	<i>Artibeus lituratus</i>	26/06/2014	Araraquara	Macho	Adulto
2199/14	<i>Artibeus lituratus</i>	26/06/2014	Araraquara	Macho	Jovem
2218/14	<i>Cynomops planirostris</i>	27/06/2014	Sumaré	Macho	Adulto
2228/14	<i>Eumops perotis</i>	30/06/2014	Campinas	Fêmea	Adulta

(conclusão)

Amostra	Espécie	Data de recebimento	Município	Gênero	Idade
2243/14	<i>Molossus molossus</i>	01/07/2014	Americo Brasiense	Fêmea	Adulta
2257/14	<i>Eumops glaucinus</i>	01/07/2014	São José do Rio Pardo	Macho	Adulto
2262/14	<i>Molossus molossus</i>	01/07/2014	Tupã	Macho	Adulto
2266/14	<i>Glossophaga soricina</i>	02/07/2014	São Pedro	Fêmea	Adulta
2297/14	<i>Molossus molossus</i>	07/07/2014	Santo Antonio do Jardim	Macho	Adulto
2304/14	<i>Platyrrhinus lineatus</i>	08/07/2014	Ribeirão Preto	Macho	Jovem
2327/14	<i>Desmodus rotundus</i>	08/07/2014	Gália	Macho	Adulto
2328/14	<i>Desmodus rotundus</i>	08/07/2014	Gália	Macho	Adulto
2341/14	<i>Artibeus concolor</i>	11/07/2014	Bebedouro	Fêmea	Adulta
2391/14	<i>Desmodus rotundus</i>	15/07/2014	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2392/14	<i>Desmodus rotundus</i>	15/07/2014	Ribeirão Preto	Fêmea	Adulta
2393/14	<i>Desmodus rotundus</i>	15/07/2014	Ribeirão Preto	Macho	Adulto
2416/14	<i>Histiotus velatus</i>	17/07/2014	Campinas	Macho	Adulto
2418/14	<i>Sturnira lilium</i>	17/07/2014	Campinas	Macho	Adulto
2440/14	<i>Molossus molossus</i>	18/07/2014	Tietê	Macho	Adulto
2445/14	<i>Cynomops planirostris</i>	18/07/2014	Valinhos	Macho	Adulto
2496/14	<i>Desmodus rotundus</i>	23/07/2014	São João da Boa Vista	Macho	Adulto

ANEXO

Anexo A – Sequências do gene *RdRp* de coronavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

(continua)

Nº Acesso GenBank	Amostra	Gênero	Hospedeiro	Ano	País	Referência
KC110782	POA/2012/E11	Alpha	Morcego	2012	Brasil	LIMA et al. (2013)
KC110781	POA/2012/44	Alpha	Morcego	2012	Brasil	LIMA et al. (2013)
HQ728486	BtKY22	Alpha	Morcego (<i>Chaerephon</i>)	2006	Quênia	TONG et al. (2009)
HQ728480	BtKY43	Alpha	Morcego (<i>Cardioderma</i>)	2006	Quênia	TONG et al. (2009)
AB683971	2231/Philippines/2010	Alpha	Morcego (<i>Hipposideros diadema</i>)	2010	Filipinas	TSUDA et al. (2012)
KC779226	Aju21	Alpha	Morcego	2014	Costa Rica	Não publicado
NC003436	CV777	Alpha	Suíno	2000	EUA	KOCHERHANS et al. (2001)
NC009657	BtCoV/512/2005	Alpha	Morcego (<i>Scotophilus</i>)	2005	China	TANG et al. (2006)
DQ249224	HKU6-1	Alpha	Morcego (<i>Myotis ricketti</i>)	2006	China	WOO et al. (2006)
DQ648844	BtCoV/A900/2005	Alpha	Morcego	2005	China	TANG et al. (2006)
EU375869	P.nat/Germany/D5.73/2007	Alpha	Morcego (<i>Pipistrellus nathusii</i>)	2007	Alemanha	GLOZA-RAUSCH et al. (2008)
EU375865	M.bec/Germany/D6.6/2007	Alpha	Morcego (<i>Myotis daubentonii</i>)	2007	Alemanha	GLOZA-RAUSCH et al. (2008)
NC010437	AFCD62	Alpha	Morcego (<i>Miniopterus magnater</i>)	2003-2004	China	CHU et al. (2008)
NC010438	HKU8 AFCD77	Alpha	Morcego (<i>Miniopterus pusillus</i>)	2003-2004	China	CHU et al. (2008)
EU834954	CoV132	Alpha	Morcego (<i>Miniopterus australis</i>)	2007	Austrália	Não publicado
EU834953	CoV100	Alpha	Morcego (<i>Rhinolophus megaphyllus</i>)	2007	Austrália	Não publicado
EU769557.1	Trinidad/1FY2 BA/2007	Alpha	Morcego (<i>Carollia perspicillata</i>)	2007	Trinidad e Tobago	CARRINGTON et al. (2008)
EU769558	Trinidad/1CO 7BA/2007	Alpha	Morcego (<i>Glossophaga soricina</i>)	2007	Trinidad e Tobago	CARRINGTON et al. (2008)
NC002645	229E	Alpha	Humano	2001	Alemanha	THIEL et al. (2001)
NC005831	NL63-Amsterdam I	Alpha	Humano	2003	Holanda	VAN DER HOEK et al. (2004)
NC009988	HKU2/GD/430/2006	Alpha	Morcego (<i>Rhinolophus sinicus</i>)	2006	China	LAU et al. (2007)

Nota: NI – Não informado

(conclusão)

Nº Acesso GenBank	Amostra	Gênero	Hospedeiro	Ano	País	Referência
NC022103	bat/USA/CDP HE15/2006	Alpha	Morcego (<i>Myotis lucifugus</i>)	2006	EUA	Não publicado
EF544564	Rocky Mountain Bat Coronavirus 27	Alpha	Morcego (<i>Myotis occultus</i>)	2006	EUA	Diminguez et al. (2008)
JN856008	A76	Alpha	Cão	1976	EUA	Regan et al. (2012)
NC002306	79-1146	Alpha	Gato	NI	EUA	Não publicado
DQ201447	TS	Alpha	Suíno	NI	China	Cheng; Liu; Wu (2004)
NC004718	Tor2	Beta	Humano	2003	Toronto	Marra et al. (2003)
NC009019	HKU4-1 B04f	Beta	Morcego (<i>Tylonycteris pachypus</i>)	2003-2004	China	Woo et al. (2007)
KC886322	P.davyi49/Mexico/2012	Beta	Morcego (<i>Pteronotus davyi</i>)	2012	México	Góes et al. (2013)
NC009021	HKU9-1 BF_005I	Beta	Morcego (<i>Rousettus lechenaulti</i>)	2005-2006	China	Woo et al. (2007)
NC006577	HKU1	Beta	Humano	2004	China	Woo et al. (2005)
NC001846	MHV-A59	Beta	Camundongo	NI	EUA	Leparc-Goffart et al. (1997)
NC003045	BCoV-ENT	Beta	Bovino	NI	EUA	Chouljenk et al. (2001)
NC007732	PHEV-VW572	Beta	Suíno	1972	Bélgica	Vijgen et al. (2006)
NC005147	ATCC VR-759	Beta	Humano	NI	Bélgica	Vijgen et al. (2005)
NC009020	HKU5-1	Beta	Morcego (<i>Pipistrellus</i>)	NI	China	Woo et al. (2007)
FJ376619	HKU11-934	Delta	<i>Pycnonotus jocosus</i>	2007	China	Woo et al. (2009)
NC011549	HKU12-600	Delta	<i>Turdus hortulorum</i>	2007	China	Woo et al. (2009)
NC001451	Beaudette	Gamma	Galinha	NI	Inglaterra	Boursnell et al. (1987)
EU095850	MG10	Gamma	Peru	NI	Canadá	Gomaa et al. (2008)
NC010646	SW1	Gamma	Baleia Beluga	NI	NI	Mihindukulasurya et al. (2008)

Nota: NI – Não informado.

Anexo B - Sequências do gene *S* de coronavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

(continua)

Acesso GenBank	Amostra	Espécie viral	Hospedeiro	Ano	País	Referência
DQ201447	TS	TGEV	Suíno	NI	China	(CHENG,J., LIU,J.X. AND WU, 2004)
JQ693050	DAE	TGEV	Suíno	NI	Coréia do Sul	Nao publicado
JN856008	A76	CCoV	Cão	1976	EUA	(REGAN et al., 2012)
NC002306	79-1146	FIPV	Gato	NI	EUA	Não publicado
DQ112226	CB/05	CCoV	Cão	2005	Itália	(BUONAVOGLIA et al., 2006)
AY436637	giant panda	CCoV	Panda Gigante	NI	China	Não publicado
AB088223	Black	FCoV	Gato	NI	NI	(MOTOKAWA et al., 1996)
NC009657	BtCoV/512/2005	Scotophilus bat coronavirus	Scotophilus bat	2005	China	(TANG et al., 2006)
KF430219	Bat/USA/CDPHE15/2006	Bat coronavirus	Myotis lucifugus	2006	EUA	Não publicado
NC003436	CV777	PEDV	Suíno	2000	EUA	(KOCHERHANS et al., 2001)
KF272920	USA/Colorado/2013	PEDV	Suíno	2013	EUA	(MARTHALER et al., 2013)
KM213245	ZJ13LY1201	PEDV	Javali	NI	China	Não publicado
NC010437	AFCD62	Miniopterus bat coronavirus 1	Miniopterus magnater	2003-2004	China	(CHU et al., 2008)
NC010436	AFCD30	Miniopterus bat coronavirus 1	<i>Miniopterus pusillus</i>	2003-2004	China	(CHU et al., 2008)
HQ728485	BtKY33	Não classificado	Miniopterus inflatus	2006	Quênia	(TONG et al., 2009)
HQ728480	BtKY43	Não classificado	Cardioderma cor	2006	Quênia	(TONG et al., 2009)
EF434381	BtCoV/Shandong/977/2006	Não classificado	Rhinolophus ferrumequinum	2006	China	(VIJAYKRISHNA et al., 2007)
NC010438	HKU8 AFCD77	HKU8	Miniopterus pusillus	2003-2004	China	(CHU et al., 2008)
JQ989271	175A	Não classificado	<i>Rousettus leschenaultii</i>	2005	China	(LAU et al., 2012)
JQ989273	TLC1347A	Não classificado	<i>Hipposideros pomona</i>	2010	China	(LAU et al., 2012)
JQ989268	TLC1310A	Não classificado	<i>Hipposideros pomona</i>	2006	China	(LAU et al., 2012)

Nota: NI – Não informado.

(conclusão)

AB691767	Niigata/01/08	Human coronavirus 229E	Humano	2008	Japão	(SHIRATO et al., 2012a)
DQ243986	HCoV-229E-25/8/03	Human coronavirus 229E	Humano	2003	Austrália	(CHIBO; BIRCH, 2006)
DQ243984	HCoV-229E-14/8/03	Human coronavirus 229E	Humano	2003	Austrália	(CHIBO; BIRCH, 2006)
NC002645	229E	Human coronavirus 229E	Humano	2001	Alemanha	(THIEL et al., 2001)
JQ771057	NL63/DE N/2010/28	Human coronavirus NL63	Humano	2010	EUA	(DOMINGUEZ et al., 2012)
NC005831	NL63-Amsterdã m I	Human coronavirus NL63	Humano	2003	Holanda	(VAN DER HOEK et al., 2004)
JX504050	NL63/RPT EC/2004	Human coronavirus NL63	Humano	2004	EUA	(LEDNICKY et al., 2013)
JQ765568	NL63/DE N/2005/193	Human coronavirus NL63	Humano	2005	EUA	(DOMINGUEZ et al., 2012)
NC009988	HKU2/GD/430/2006	<i>Rhinolophus bat coronavirus HKU2</i>	<i>Rhinolophus sinicus</i>	2006	China	(LAU et al., 2007)
EF203067	HKU2/HK/33/2006	<i>Rhinolophus bat coronavirus HKU2</i>	<i>Rhinolophus sinicus</i>	2006	China	(LAU et al., 2007)
EF203065	HKU2/HK/46/2006	<i>Rhinolophus bat coronavirus HKU2</i>	<i>Rhinolophus sinicus</i>	2006	China	(LAU et al., 2007)

Nota: NI – Não informado.

Anexo C – Sequências do gene VP7 de rotavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

(continua)

Nº acesso <i>GenBank</i>	Amostra	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
EF200549	RUBV3	G3	Bovino	Índia	(GHOSH et al., 2007)
KC960624	MSLH14	G3	Morcego	China	(HE et al., 2013)
KF649188	MYAS33	G3	Morcego	China	Não publicado
HQ661117	PA260	G3	Humano	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2011b)
JN903518	03V04954	G3	Equino	Irlanda	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
JQ345496	EQRVSA1	G14	Equino	África do Sul	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
JF712560	L338	G13	Equino	Reino Unido	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
AB605258	TJ41	G26	Suíno	Japão	(MIYAZAKI et al., 2011)
EF990708	B3458	G9	Humano	Bélgica	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
AF060487	US1205	G9	Humano	EUA	(RAMACHANDRAN et al., 1998)
EF059917	CAU214	G12	Humano	Coréia do Sul	(LE et al., 2008)
DQ204743	RU172	G12	Suíno	Índia	(GHOSH et al., 2006)
AY773003	DHAKA6	G11	Humano	Bangladesh	(RAHMAN et al., 2005)
M23194	YM	G11	Suíno	México	(RUIZ et al., 1988)
EF672588	IAL28	G5	Humano	Brasil	(HEIMAN et al., 2008)
AF242393	H1	G5	Equino	Grã-Bretanha	(CIARLET et al., 2001)
DQ062572	1340415	G5	Suíno	Itália	(MARTELLA et al., 2006)
GU983676	KENYA4582	G25	Morcego	República do Quênia	(ESONA et al., 2010)
D01054	A5	G8	Bovino	Tailândia	(TANIGUCHI et al., 1991)
DQ005120	DRC86	G8	Humano	República Democrática do Congo	(MATTHIJNSSENS et al., 2006b)
GQ479955	ETD822	G16	Murino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2011a)
EU805775	ECU534	G20	Humano	Equador	(SOLBERG et al., 2009)
AB621363	SG33	G27	Marsupial	Japão	Não publicado
X57852	B223	G10	Bovino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
DQ981476	ERV2	G10	Equino	Índia	(GULATI et al., 2007)
EF672567	GBRA64	G10	Humano	Grã-Bretanha	(HEIMAN et al., 2008)
DQ492674	DHAKA16	G1	Humano	Bangladesh	(RAHMAN et al., 2007)
K02033	WA	G1	Humano	EUA	(RICHARDSON et al., 1984)
EF672616	ST3	G4	Humano	Grã-Bretanha	(HEIMAN et al., 2008)
X06759	GOTTFRIED	G4	Suíno	EUA	(GORZIGLIA et al., 1988)
AF237666	HG18	G15	Bovino	Índia	(RAO; GOWDA; REDDY, 2000)

(conclusão)

M12394	NCDV	G6	Bovino	EUA	(GLASS et al., 1985)
EF554109	HUN5	G6	Humano	Hungria	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
HQ650124	DS1	G2	Humano	EUA	(MLERA et al., 2011)
AY766085	344614	G2	Suíno	Espanha	(MARTELLA et al., 2005)
DQ534015	CMP034	G2	Suíno	Tailândia	(KHAMRIN et al., 2007)
AB454421	AZUK1	G21	Bovino	Japão	(ABE et al., 2009)
AB513837	DAI10	G24	Bovino	Japão	(ABE et al., 2011)
AB080737	TY3	G7	Peru	Irlanda	(MORI et al., 2003)
FN393054	PHEA14246H UN08	G23	Aviário	Hungria	(URSU et al., 2009)
FJ169861	02V0002G3	G19	Aviário	Alemanha	(TROJNAR; OTTO; JOHNE, 2009))
EU486973	Tu03V0002E1 0	G22	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009)
S58166	TY1	G17	Aviário	Irlanda	(KOOL; HOLMES, 1993)
X98869	99383	G18	Bovino	Alemanha	(ROHWEDDER et al., 1997)
D82979	PO13	G18	Aviário	Japão	(ITO et al., 2001)

Anexo D – Sequências do gene VP4 de rotavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

(continua)

Nº acesso <i>GenBank</i>	Nome da estirpe de rotavírus	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
DQ288661	CMH222	P3	Humano	Tailândia	(KHAMRIN et al., 2006)
KC960622	MSLH14	P3	Morcego	China	(HE et al., 2013)
DQ841262	SA11H96	P2	Humano	África do Sul	(SMALL et al., 2007)
JF712558	L338	P18	Equino	Reino Unido	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
AB119636	NCDV	P1	Bovino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
AF143408	MP409	P1	Humano	Índia	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
FJ816611	TUCH	P24	Símio	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
FJ031027	LAMBNT	P15	Ovino	China	(CHEN et al., 2009))
AF237665	HG18	P21	Bovino	India	(RAO; GOWDA; REDDY, 2000)
L07888	CRW8	P7	Suíno	Austrália	(HUANG; NAGESHA; HOLMES, 1993)
FJ492835	6107	P32	Suíno	Irlanda	(COLLINS et al., 2010)
DQ061053	1340415	P26	Suíno	Itália	(MARTELLA et al., 2006)
DQ003291	HP140	P13	Suíno	Índia	(GHOSH et al., 2007))
AF526374	16001	P22	Leporídeo	NI	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
M22306	UK	P5	Bovino	Reino Unido	(KANTHARIDIS et al., 1988)
AB513836	DAI10	P33	Bovino	Japão	(ABE et al., 2011)
EU805773	ECU534	P28	Humano	Equador	(SOLBERG et al., 2009)
JF781161	NMTL	P23	Suíno	China	(SHI et al., 2012)
HQ268847	CMP4808	P23	Suíno	Tailândia	(OKITSU et al., 2011)
AB823215	SG385	P36	Marsupial	Japão	Não publicado
U08421	EC	P16	Murino	NI	(DUNN et al., 1994)
U08424	EHP	P20	Murino	NI	(DUNN; CROSS; GREENBERG, 1994)
JN903521	04V2024	P12	Equino	Irlanda	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
EF672556	69M	P10	Humano	Índia	(HEIMAN et al., 2008)
KF649187	MYAS33	P3	Morcego	China	Não publicado

(conclusão)

Nº acesso <i>GenBank</i>	Nome da estirpe de rotavírus	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
DQ534016	CMP034	P27	Suíno	Tailândia	(KHAMRIN et al., 2007)
AB571047	FGP51	P34	Suíno	Japão	(OKADERA et al., 2013)
L33895	ST3	P6	Humano	Reino Unido	(PADILLA-NORIEGA et al., 1995)
GU983674	4852	P6	Morcego	Quênia	(ESONA et al., 2010)
M33516	GOTTFRIED	P6	Suíno	EUA	(GORZIGLIA et al., 1990)
AY787644	TBCHEN	P4	Humano	China	(CHEN et al., 2008)
EF672584	IAL28	P8	Humano	Brasil	(HEIMAN et al., 2008)
AF523677	RMC321	P19	Humano	Índia	(VARGHESE et al., 2004)
L10359	4F	P19	Suíno	China	(BURKE; MCCRAE; DESSELBERGER, 1994)
AY773004	DHAKA6	P25	Humano	Bangladesh	(RAHMAN et al., 2005)
AB077766	T152	P9	Humano	Tailândia	(PONGSUWANNA et al., 2002)
EF554107	HUN5	P14	Humano	Hungria	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
JX204814	10V0112H5	P37	Aviário	Alemanha	(TROJNAR et al., 2013)
AB454420	AZUK1	P29	Bovino	Japão	(ABE et al., 2009)
EU486962	Ch06V0661	P31	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009)
EU486956	Ch02V0002G3	P30	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009))
D16352	99383	P17	Bovino	Alemanha	(ISEGAWA et al., 1994)
EU486958	Tu03V0002E10	P35	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009)
D13394	B223	P11	Bovino	EUA	(TANIGUCHI; URASAWA; URASAWA, 1993)
FJ361204	116EAG	P11	Humano	India	(RIPPINGER; PATTON; MCDONALD, 2010)

Anexo E – Sequências do gene NSP3 de rotavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

Nº acesso GenBank	Amostra	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
DQ146704	T152	T3	Humano	Tailândia	(RAHMAN et al., 2007)
JF791803	H96	T5	Símio	India	(DUTTA et al., 2011)
JQ358772	INDMCS60	T5	Humano	India	(MUKHERJEE et al., 2012)
DQ494403	KJ44	T1	Bovino	Coreia do Sul	(PARK et al., 2006)
EF990705	BRV033	T6	Bovino	Venezuela	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
JF693066	UKTC	T7	Bovino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2008b)
AY787649	TBCHEN	T2	Humano	China	(CHEN et al., 2008)
EF554112	HUN5	T6	Humano	Hungria	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
EF990693	A411	T1	Suíno	Venezuela	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
AB009626	PO13	T4	Aviário	Japão	(ITO et al., 2001)
FJ169859	02V0002G3	T8	Aviário	Alemanha	(TROJNAR; OTTO; JOHNE, 2009)
AB513838	AZUK1	T9	Bovino	Japão	(ABE et al., 2011)
GQ479953	ETD822	T10	Murino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2011a)
GU983678	KE4852	T11	Morcego	Quênia	(ESONA et al., 2010)
JF712563	L338	T12	Equino	Reino Unido	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
X81431	OSU	T1	Suíno	EUA	(RAO et al., 1995)
FJ793979	ac11443/05	T1	Humano	Brasil	(TORT et al., 2010)
KF907262	PE18974	T3	Humano	Brasil	(GÓMEZ et al., 2014b)
JF712585	E403	T3	Equino	Argentina	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
KC412037	Arg4605	T7	Humano	Argentina	(DEGIUSEPPE et al., 2013)
KJ721756	RS15851	T2	Humano	Brasil	(GÓMEZ et al., 2014a)
KC960627	MSLH14	T3	Morcego	China	(HE et al., 2013)

Anexo F – Sequências do gene NSP4 de rotavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

Nº acesso GenBank	Amostra	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
EF554113	HUN5	E1	Humano	Hungria	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
JQ713651	K8	E3	Humano	Japão	(GHOSH et al., 2012)
AY576006	B4106	E5	Humano	Bélgica	(DE LEENER et al., 2004)
GU199490	GOTTFRIED	E1	Suíno	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2010a)
D88831	OSU	E1	Suíno	EUA	(HORIE; MASAMUNE; NAKAGOMI, 1997)
DQ534017	CMP034	E9	Suíno	Tailândia	(KHAMRIN et al., 2007)
AB009627	PO13	E4	Aviário	Japão	(ITO et al., 2001)
HQ661143	RV19895	E8	Canino	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2011b)
U96337	EC	E7	Murino	NI	Não publicado
DQ146691	N26	E6	Humano	Bangladesh	(RAHMAN et al., 2007)
FJ169862	02V0002G3	E10	Aviário	Alemanha	(TROJNAR; OTTO; JOHNE, 2009)
AB065286	TY3	E11	Aviário	Irlanda	(MORI et al., 2002)
FJ347109	CHUBUT	E12	Camelídeo	Argentina	(MATTHIJNSSENS et al., 2009)
HM627562	B10	E13	Humano	Quênia	(GHOSH et al., 2011)
JF712564	L338	E14	Equino	Reino Unido	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
DQ205230	30-96	E5	Leporídeo	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2006a)
KF907268	PE15776	E3	Humano	Brasil	(GÓMEZ et al., 2014b)
HQ661121	PA26097	E3	Humano	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2011b)
KF185102	QUI35F5	E3	Humano	Brasil	Não publicado
HQ661143	RV19895	E3	Canino	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2011b)
KC960628	MSLH14	E3	Morcego	China	(HE et al., 2013)

Anexo G – Sequências do gene NSP5 de rotavírus, recuperadas do *GenBank*, utilizadas para construção da árvore filogenética

Nº acesso GenBank	Amostra	Genotipo	Hospedeiro	Origem	Referência
GU199491	GOTTFRIED	H1	Suíno	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2010a)
DQ916134	CMP034	H1	Suíno	Tailândia	(KHAMRIN et al., 2007)
DQ204739	RU172	H1	Suíno	Índia	(GHOSH et al., 2006)
EF672618	ST3	H1	Humano	Reino Unido	(HEIMAN et al., 2008)
EF672590	IAL28	H1	Humano	Brasil	(HEIMAN et al., 2008)
AY787651	TBCHEN	H2	Humano	China	(CHEN et al., 2008)
EF990706	BRV033	H3	Bovino	Venezuela	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
EF554114	HUN5	H3	Humano	Hungria	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
EF554136	PA169	H3	Humano	Itália	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
EF554158	OVR762	H3	Ovino	Espanha	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
AB009628	PO13	H4	Aviário	Japão	(ITO et al., 2001)
EU486980	03V0002E10	H4	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009)
DQ838627	SA115S	H5	Símio		(SMALL et al., 2007)
HM627563	B10	H5	Humano	Quênia	(GHOSH et al., 2011)
DQ146706	T152	H6	Humano	Tailândia	(RAHMAN et al., 2007)
EU636934	RRV	H6	Símio	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2008a)
EU708955	CAT97	H6	Felino	Austrália	(TSUGAWA; HOSHINO, 2008)
EU708922	CU1	H6	Canino	EUA	(TSUGAWA; HOSHINO, 2008)
JF712587	E403	H7	Equino	Argentina	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
EU486984	06V0661	H8	Aviário	Alemanha	(SCHUMANN et al., 2009)
FJ169863	02V0002G3	H8	Aviário	Alemanha	(TROJNAR; OTTO; JOHNE, 2009)
GU983680	4852	H10	Morcego	Quênia	(ESONA et al., 2010)
GQ479957	ETD822	H9	Murino	EUA	(MATTHIJNSSENS et al., 2011a)
JF712565	L338	H11	Equino	Reino Unido	(MATTHIJNSSENS et al., 2012a)
KJ721739	MS11142	H2	Humano	Brasil	(GÓMEZ et al., 2014a)
KC960629	MSLH14	H6	Morcego	China	(HE et al., 2013)
KF649186	MYAS33	H6	Morcego	China	Não publicado
KF185103	QUI35F5	H6	Humano	Brasil	Não publicado