

MARA LÚCIA GRAVINATTI

**Detecção de vírus de importância a Saúde Pública
em animais sinantrópicos urbanos e rurais**

SÃO PAULO – SP
2022

MARA LÚCIA GRAVINATTI

**Detecção de vírus de importância a Saúde Pública em animais sinantrópicos
urbanos e rurais**

VERSÃO CORRIGIDA

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

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Fábio Gregori

São Paulo
2022

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)

4269
FMVZ

Gravinatti, Mara Lúcia
Detecção de vírus de importância a Saúde Pública em animais sinantrópicos urbanos e rurais / Mara Lúcia Gravinatti. – 2022.
127 f. : il.

Doutorado (Tese) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2023.

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

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Gregori.

1. Rato. 2. Quiróptero. 3. Saúde Pública. 4. Vírus. 5. Diagnóstico. I. Título.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 07 de julho de 2020
CEUA N 1606200218

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Fábio Gregori

Área: Medicina Veterinária Preventiva E Saúde Animal

Título da proposta: "Detecção de vírus de importância a saúde pública em animais sinantrópicos urbanos e rurais."

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ (ID 006525)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 04/maio/2020) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Prezados Membros da CEUA-FMVZ, Apresentamos emenda ao projeto em epígrafe, intitulado [Detecção de vírus de importância a saúde pública em animais sinantrópicos urbanos e rurais], com o intuito de aumentar, em pelo menos 300 amostras e incluir outras espécies de animais sinantrópicos além, dos roedores já anteriormente apreciados pela CEUA, Da mesma maneira que já autorizado para as demais espécies, sendo elas: a) roedores: *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*; b) gambás: *Didelphis* sp.; c) saguis: *Callithrix* sp., os proponentes não desenvolverão qualquer atividade de experimentação com esses animais, nem desempenharão atividades de manutenção, inoculação de substâncias químicas, fármacos, anestésicos, ou agentes biológicos, transferência de propriedade ou abate, limitando-se tão somente ao recebimento das amostras fecais dos animais sinantrópicos por parte dos servidores (veterinários) do Serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo, do Instituto Pasteur do Estado de São Paulo, e ao processamento laboratorial das amostras clínicas previamente coletadas. Espera-se obter amostras de morcegos de todos os tipos, hematófagos (*Desmodus rotundus*, *Diaemus youngi*, *Diphylla ecaudata*), insetívoros, frugívoros, sendo identificados pelos servidores e disponibilizados a depender da demanda do serviço estadual. Fico à disposição de V.Sa. para eventuais esclarecimentos. "

Comentário da CEUA: "O pesquisador apresentou o projeto atualizado conforme solicitado por esta CEUA."

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes

Vice-Coordenador

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo



Parecer da Comissão Científica do Instituto Pasteur

Registro na CCIP: IP 01/2020.

Título do projeto: Detecção de vírus de importância a Saúde Pública em animais sianantrópicos urbanos e rurais

Tipo de Projeto: Projeto de Pesquisa/ Colaboração

Coordenador: Dr. Fabio Gregori/FMVZUSP

Pesquisador Responsável interno: Dra. Keila Iamamoto Nogi /Instituto Pasteur

Baseado na análise do assessor ad hoc e na aprovação da Comissão de Ética no uso de Animais do Instituto Pasteur (protocolo n. 01.2020), a CCIP confere parecer **favorável** a execução do referido projeto científico.

Ressaltamos, que os relatórios científicos deverão ser encaminhados anualmente, à CCIP, a partir desta data, visando o acompanhamento do desenvolvimento do projeto e permitindo a atualização das informações da produção científica do Instituto Pasteur.

São Paulo, 24 de julho de 2020.

Atenciosamente,

Dra. Sandriana dos Ramos Silva
Coordenadora CCIP
Instituto Pasteur

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GRAVINATTI, Mara Lúcia

Título: **Detecção de vírus de importância a Saúde Pública em animais sinantrópicos urbanos e rurais**

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 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: _____

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha família, que sempre estiveram presentes em todas as etapas da minha vida profissional me dando todo o suporte para que eu pudesse chegar até aqui (obrigada mãe, pai e a minha irmã Milena).

Não poderia deixar de mencionar talvez aquele que seja o meu maior mentor e que sempre sonhou esse sonho junto comigo, meu avô Antônio Gravinatti, que sempre se encheu de orgulho de dizer que a neta era médica veterinária, e que hoje estaria muito mais orgulhoso de me ver nesta posição.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Gregori, obrigada por sempre estar com as suas portas aberta, com uma conversa e uma orientação, foi um prazer enorme compartilhar esse momento com você e aprendi muito além das coisas do doutorado contigo, meus mais sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Dr. Paulo Eduardo Brandão, obrigada por também estar sempre aberto a ajudar, com conversas e discussões de informações, obrigada por todo o auxílio prestado ao longo do meu tempo dentro dos laboratórios.

A todos os demais professores e funcionários do departamento de Medicina Veterinária Preventiva (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, que estiveram presentes compartilhando momentos, conversas, produções, aulas, almoços e cafés. Gostaria de tecer um agradecimento em especial ao Danival, o departamento não seria a mesma coisa sem você, obrigada por toda paciência, por todo carinho e por todo comprometimento em estar sempre nos ajudando a entender como fazer uma coisa ou a outra.

As técnicas do Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia (LABMAS), Sheila e Sueli, sempre solícitas para auxiliar, explicar e ensinar os procedimentos.

As amigas feitas ao longo dos anos, algumas tão fortes que se tornaram família, obrigada por compartilharem sorrisos, choros, almoços e cafés da tarde (Bianca, Carol, Nelson, Sebastian, Thiago, Lina, Jaciara, Isabela), e aos estagiários que vem e vão.

Gostaria de agradecer também aquelas que foram meu porto seguro durante a estadia em São Paulo, Taiana e Cristina, compartilhávamos mais do que um apartamento, vivemos e sobrevivemos juntas a muitas coisas e amo vocês para sempre.

Não poderia deixar de lado aqueles que possibilitaram que essa tese fosse realizada, deixo meus agradecimento ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CAPES pelo financiamento do projeto, a Prefeitura Municipal de São Paulo especialmente o Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN), em nome do Gladyston Costa por orquestrar as coletas de roedores sinantrópicos na cidade de São Paulo; e ao Instituto Pasteur, especialmente o Serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo, citando os nomes da Keila Iamamoto Nogi e da Karin Scheffer Ferreira por possibilitarem o uso e identificação dos morcegos.

RESUMO

GRAVINATTI, M. L. **Detecção de vírus de importância a Saúde Pública em animais sinantrópicos urbanos e rurais.** 2022. Defesa da Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

Roedores e morcegos são considerados animais sinantrópicos pois coabitam e aproveitam áreas habitadas pelo homem, de forma permanente, transitória, de passagem ou para descanso, podendo também atuar como sentinelas, reservatórios e participantes na transmissão de importantes patógenos de importância a Saúde Pública. Portanto, considerou-se necessário o entendimento da epidemiologia de alguns importantes agentes virais, além dos mecanismos de evolução e das possíveis transmissões nessas espécies. Para isso, utilizaram-se 108 amostras fecais de roedores urbanos (*Rattus rattus* e *Rattus norvegicus*) provenientes de Procedimentos Regulares de Desratização no município de São Paulo - SP, e 220 amostras de pool de órgãos (pulmão, fígado, baço, intestino com fezes) de morcegos provenientes do Serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo - SP, submetendo-as a reação de transcrição reversa (RT) e reação em cadeia pela polimerase (PCR) para a detecção de rotavírus (A e B), coronavírus e hantavírus (grupos do velho mundo e novo mundo) e hepatite E. Todas as amostras do gênero *Rattus* foram negativas para todos os vírus analisados, já para os morcegos foi possível putativamente a detecção de 5,45% (12/220) de positividade dos morcegos para rotavírus A (RVA) e 14,55% (32/220) para coronavírus. Nenhuma das amostras positivas foi passível de sequenciamento do tipo Sanger, apesar de várias estratégias e repetições realizadas. A análise destes dados permite inferir a circulação, mesmo que baixa destes agentes virais no Estado de São Paulo, e deixa em evidência a necessidade de aprimoramento e/ou atualização de métodos diagnósticos para que se possa detectar, confirmar e caracterizar estes diferentes vírus, face a limitação do sequenciamento genético, bem como a necessidade de se realizar um sistema de vigilância de animais sinantrópicos de forma contínua e ininterrupta, devido a quantidade de agentes zoonóticos que estes animais são capazes de carrear e disseminar entre outras espécies (animais e ou humana). A possibilidade de unir sinergicamente instituições de pesquisa com serviços oficiais de monitoramento da fauna sinantrópica é de extrema importância,

visando aproveitamento de amostras oficiais e o compartilhamento de conhecimentos e experiências, concretizando ainda mais o conceito de Saúde Única.

Palavras-chave: rato, quiróptero, Saúde Pública, vírus, diagnóstico, Saúde Única.

ABSTRACT

GRAVINATTI, ML **Detection of Public Health importance viruses in urban and rural synanthropic animals**. 2022. Thesis Defense (Doctorate in Science) – Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, São Paulo University, São Paulo, 2022.

Rodents and bats are considered synanthropic animals because they cohabit and take advantage of areas inhabited by man, permanently, transiently, passing through or resting, and can also act as sentinels, reservoirs and participants in the transmission of important pathogens of importance to Public Health. Therefore, it was considered necessary to understand the epidemiology of some important viral agents, in addition to the mechanisms of evolution and possible transmissions in these species. For this, 108 fecal samples from urban rodents (*Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*) from Regular Deratization Procedures in the city of São Paulo - SP, and 220 samples from organ pools (lung, liver, spleen, intestine with feces) were used.) from bats from the Service of Surveillance and Control of Rabies in the State of São Paulo - SP, submitting them to reverse transcription reaction (RT) and polymerase chain reaction (PCR) for the detection of rotavirus (A and B) , coronavirus and hantavirus (old world and new world groups) and hepatitis E. All samples of the genus *Rattus* were negative for all analyzed viruses, while for bats it was putatively possible to detect 5.45% (12/220) of positivity of bats for rotavirus A (RVA) and 14.55% (32/220) for coronavirus. None of the positive samples were amenable to Sanger-type sequencing, despite several strategies and repetitions performed. The analysis of these data allows us to infer the circulation, even if low, of these viral agents in the State of São Paulo, and highlights the need for improvement and/or updating of diagnostic methods in order to detect, confirm and characterize these different viruses, given the limitation of genetic sequencing, as well as the need to carry out a surveillance system for synanthropic animals in a continuous and uninterrupted way, due to the amount of zoonotic agents that these animals are capable of carrying and disseminating among other species (animals and or human) . The possibility of synergistically uniting research institutions with official services for monitoring synanthropic fauna is extremely important, aiming at taking advantage of official samples and sharing knowledge and experiences, further concretizing the concept of One Health.

KEY WORDS: rat, bat, Public Health, vírus, diagnosis, One Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do genoma das principais espécies de coronavírus dentro dos quatro gêneros (<i>Alpha</i> , <i>Beta</i> , <i>Delta</i> e <i>Gamma</i>).....	26
Figura 2: Representação do genoma do vírus da hepatite E e as codificações em proteínas de cada quadro de leitura aberta (open reading frame – ORF). Sendo região 5' (não codificante - NC) composto por 7-metilguanossina (7mG) e a região 3'NC inclusa de uma cauda poliadenilada poly(A).....	33
Figura 3: Pontos de coleta de amostras de roedores sinantrópicos pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN) da Prefeitura Municipal de São Paulo, em procedimentos regulares de desratização entre 2018 e 2019.....	50
Figura 4: Eletroforese em gel de agarose 1,5% para Hantavírus (gene S para o complexo da Síndrome cardiopulmonar - Novo Mundo). À esquerda está o padrão de tamanho de fragmentos (Ladder) com banda mais brilhante em 500 pb. O Produto esperado seria de 417 pb (seta amarela), não foram observadas bandas nas amostras clínicas com tamanho de 417pb, embora tenha sido observas ampliações inespecíficas (aproximadamente 550 pb) em amostras de roedores sinantrópicos testadas (R18, R32, R60, R75, R87).....	52
Figura 5: Distribuição por gênero e/ou espécie dos morcegos testados neste estudo, identificados pelas chaves de Vizzoto ; Taddei (1973) e Gregorin ; Taddei (2002) para quirópteros brasileiros.....	53
Figura 6: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP com a distribuição da origem geográfica dos espécimes de morcegos testados neste estudo. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.....	54
Figura 7: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando a localidade dos espécimes de morcego positivos para a reação de PCR ao gene NSP5 do rotavírus A. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.....	55
Figura 8: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando os municípios de origem dos espécimes de morcego putativamente positivos para coronavírus de acordo com amplificação gene ORF1b (ESCUTANAIRE <i>et al.</i> , 2007). A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.....	56
Figura 9: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando os municípios de origem dos espécimes de morcego putativamente co-infectados para coronavírus e rotavírus. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.....	57

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Valores de ponto de corte de identidade de nucleotídeo dos segmentos genômicos do rotavírus B e seus respectivos genótipos, ponto de corte e variabilidade.....	25
Quadro 2: <i>Primers</i> e protocolos de termo ciclagem e de mix utilizados para a detecção da PCR para o gene β -actina.....	41
Quadro 3: <i>Primers</i> e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção em nested-PCR dos genes codificadores de proteínas não estruturais (NSP5) do Rotavírus grupo A.....	42
Quadro 4: <i>Primers</i> e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção dos genes codificadores de proteínas estruturais VP1 de rotavírus B em roedores sinantrópicos, tendo como produto final um fragmento de 340 pb.....	43
Quadro 5: <i>Primers</i> e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção dos genes codificadores de proteínas estruturais VP6 de rotavírus B em roedores sinantrópicos, tendo como produto final um fragmento de 606 pb.....	43
Quadro 6: <i>Primers</i> e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de PCR ao gene ORF1b para detecção genérica do coronavírus, tendo como resultado um fragmento de 179 pb.....	44
Quadro 7: <i>Primers</i> e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de nested PCR do gene RNA dependente RNA polimerase (RdRp) para detecção genérica de coronavírus, resultando em um fragmento de 440 pb.....	44
Quadro 8: <i>Primers</i> e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de PCR para o gene do Betacoronavírus (gene RdRp) codificadora de proteínas estruturais de coronavírus (CoV), resultando em um fragmento de 250 pb.....	45
Quadro 9: <i>Primers</i> utilizados para a detecção em reação de nested - PCR do gene ORF1 do vírus da hepatite E, resultando em fragmento de 287 pb.....	45
Quadro 10: <i>Primers</i> e condições de termo ciclagem e das reações utilizadas para a detecção por PCR de fragmento do gene S de hantavírus do grupo de Velho Mundo em roedores sinantrópicos.....	46
Quadro 11: <i>Primers</i> e condições de termo ciclagem e das reações utilizadas para a detecção por nested-PCR para detecção de fragmento do gene S de hantavírus do grupo do Novo Mundo em roedores sinantrópicos.....	46
Quadro 12: Relação entre as espécies de morcegos acometidas pela infecção por coronavírus, rotavírus e coinfeção (coronavírus e rotavírus).....	58

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	15
CAPÍTULO I: ROEDORES SINANTRÓPICOS	18
CAPÍTULO II: DETECÇÃO DE VÍRUS DE IMPORTÂNCIA A SAÚDE PÚBLICA EM ANIMAIS SINANTRÓPICOS URBANOS E RURAIS	19
1. INTRODUÇÃO	19
1.1. ROTAVÍRUS (RV).....	21
1.2. CORONAVÍRUS (COV)	25
1.3. HANTAVÍRUS (HV)	29
1.4. HEPATITE E (HVE)	33
2. OBJETIVOS	37
2.1. GERAL	37
2.2. ESPECÍFICOS.....	37
3. MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1. AMOSTRAS CLÍNICAS	38
3.1.1. <i>Roedores</i>	38
3.1.2. <i>Morcegos</i>	39
3.2. EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS.....	40
3.3. REAÇÃO DE TRANSCRIÇÃO REVERSA (RT) E REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR)	41
3.3.1. <i>Beta actina (β- actina)</i>	41
3.3.2. <i>Rotavírus</i>	42
3.3.3. <i>Coronavírus</i>	43
3.3.4. <i>Hepatite E</i>	45
3.3.5. <i>Hantavírus</i>	46
3.4. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE.....	47
3.5. REPRODUTIBILIDADE	47
3.6. SEQUENCIAMENTO GENÉTICO	48
4. RESULTADOS	49
4.1. ROEDORES SINANTRÓPICOS	49
4.2. MORCEGOS	52
5. DISCUSSÃO	59
5.1. ROEDORES	59

5.2. MORCEGOS	72
5.3. DISCUSSÕES GERAIS.....	77
6. CONCLUSÕES	79
7. REFERÊNCIAS	80

APÊNDICES

INTRODUÇÃO

Por definição, animais sinantrópicos são aqueles que se aproveitam de áreas habitadas pelo homem, de forma permanente, transitória ou como passagem e descanso, já animais domésticos possuem maior vínculo, na finalidade de companhia, produção de alimentos ou transporte (OBERSTE *et al.*, 2013).

Os roedores (Ordem *Rodentia*) estão dispersos por todos os continentes, com exceção da Antártida (MEERBURG *et al.*, 2009), e tem distribuição cosmopolita, heterogênea e facilitada pelo contato com pessoas (COSTA *et al.*, 2017). Para eles, o conceito de sinantrópicos já é bem estabelecido e aceito, pelo fato de coexistirem no mesmo ambiente que pessoas e outros animais e atuarem como sentinelas, reservatórios e participantes de vários modelos de transmissão de doenças de importância a saúde pública (MOORE, 1963). Algumas espécies de roedores obtiveram maior capacidade de adaptação ao ambiente urbano, dentre eles o camundongo (*Mus musculus*), o rato preto ou de telhado (*Rattus rattus*) que coabitam ambientes residenciais, industriais e áreas verdes na presença de outros roedores, e a ratazana (*Rattus norvegicus*) que é encontrada em ambientes com menor grau de infraestrutura (CAVIA *et al.*, 2009), favorecida pela facilidade de acesso, disponibilidade de abrigos e da grande oferta de alimento (JOHNSTON, 2001).

Em geral, ratos são conhecidos transmissores de doenças infecciosas (McFARLANE *et al.*, 2012; CHAGAS *et al.*, 2017), envolvidos na emergência ou manutenção como reservatórios naturais e pela disseminação de vírus, bactérias e protozoários de forma direta (mordidas) ou indireta (urina e fezes); ou quando são predados por outras espécies como alimento e, até mesmo, sendo transmitidas por vetores (carrapatos, pulgas, ácaros) quando infestam estes hospedeiro (MEERBURG *et al.*, 2009; FIRTH *et al.*, 2014; RABIEE *et al.*, 2018). Apesar de haver restrita informação sobre a dimensão da população de ratos sinantrópicos, alguns indícios permitem subjetivamente detectar e estimar sua presença no local, como: excrementos, marcas em paredes, trilhas pelo chão, fontes de alimento ou a visualização do roedor e/ou estragos causados por ele (REIS *et al.*, 2008; CAVIA *et al.*, 2009; PANTI-MAY *et al.*, 2016); ou determinando o número mínimo conhecido (KREBS *et al.*, 1966), por meio de capturas e recapturas numa mesma área para se estimar a taxa de infestação (MASI *et al.*, 2009; PANTI-MAY *et al.*, 2016).

Sabe-se que roedores silvestres também já foram descritos como reservatórios para hantavírus, vaccínia, *Lassa* vírus, entre outros agentes virais; sendo que estas espécies de roedores podem coabitar ambientes rurais, áreas de interface selvagem/rural e áreas urbanas, entrando em contato com pessoas durante atividades laborais ou de lazer, dada também a proximidade com habitações (AMARAL *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2017; SAEZ *et al.*, 2018; VADELL ; VILLAFANE, 2016).

Por isso que, fenômenos de migração de populações acabam gerando um mosaico ambiental no local de estabelecimento, pela aglomeração de pessoas, a necessidade de áreas agrícolas para subsistência, gerando acúmulo de alimento e resíduos, que servem como atrativos para diferentes espécies de animais sinantrópicos e silvestres.

Os morcegos (Ordem *Chiroptera*) representam a segunda maior ordem de mamíferos, com mais de 1400 espécies (SIMMONS ; CIRRANELLO 2021). Sua história evolutiva e adaptativa data em mais de 50 milhões de anos, todo esse período permitiu que os morcegos reduzissem sua massa corporal, adaptassem seus ossos de acordo com o peso (ossos ocos), além de não possuir medula óssea para produção de células de defesa (linfócitos B), permitindo assim a coevolução com uma ampla variedade de microrganismos sem causar doença nesses hospedeiros (ROCHA *et al.*, 2021).

Os morcegos são hospedeiros de uma grande diversidade viral causadora de doenças em seres humanos e animais, por exemplo: Sarampo, Caxumba, Parainfluenza, Cinomose e Hepatite C, vírus do Ebola e Marburg (CALISHER *et al.*, 2006). Além desses, é reservatório de diferentes tipos de *Coronavirus* sp., no qual desde os finais do ano de 2019 traz grandes problemas à saúde pública mundial (BRANDÃO *et al.*, 2020; ZHOU *et al.*, 2020). Apesar dos questionamentos frente a possibilidade de existir um hospedeiro intermediário responsável pelo processo de *spill-over* (LIU *et al.*, 2020), é possível determinar a ancestralidade da Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo *Coronavirus* tipo 2 (SARS-CoV-2) em 96,1% de identidade genômica ao vírus de origem de morcegos insetívoros do gênero *Rhinolophus* spp. (RaTG133) (ZHOU *et al.*, 2020).

Ao analisarem os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Brasil (SINAN), Benavides *et al.* (2020) observaram que entre os anos de 2008 e 2016 foram registradas 4.172 mordidas de morcegos em seres humanos, sendo um

importante dado frente a vigilância do vírus da raiva, considerando riscos de exposição, evidência de circulação dos hospedeiros e do vírus.

Apesar dessa relação intensa de enfermidades transmitidas pela fauna sinantrópica, e alguma forma, eles também são fornecedores de benefícios aos seres humanos, por exemplo, serem supressores significativos de outras pragas de níveis tróficos inferiores tanto em ambientes urbanos quanto rurais. Portanto o intuito desta tese é verificar a importância destes animais sinantrópicos (roedores e morcegos) encontrados em ambientes urbanos e rurais do Estado de São Paulo, realizando uma investigação de vírus de importância a Saúde Pública.

CAPÍTULO I: ROEDORES SINANTRÓPICOS

ARTIGO PUBLICADO.

GRAVINATTI ML, BARBOSA CM, SOARES RM, GREGORI F. Synanthropic rodents as virus reservoirs and transmitters. *Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine*. 53:e20190486, 2020. doi: 10.1590/0037-8682-0486-2019.

Disposto como Anexo 1.

CAPÍTULO II: DETECÇÃO DE VÍRUS DE IMPORTÂNCIA A SAÚDE PÚBLICA EM ANIMAIS SINANTRÓPICOS URBANOS E RURAIS

1. INTRODUÇÃO

O conceito de Saúde Única pode ser sintetizado em uma força tarefa multissetorial e transdisciplinar cujo objetivo final é reconhecer a conexão de pessoas, animais e do meio ambiente, resultando em melhorias principalmente no conceito saúde e bem-estar (MACKENZIE *et al.*, 2019). No Brasil, segundo a Constituição Federal de 1988 (Artigo 196) a saúde representa um direito de todo cidadão brasileiro, de modo universal e igualitário e cabe ao Estado provedor desse direito, garantindo políticas sociais e econômicas para reduzir o risco de doenças, promover, proteger e recuperar a saúde (BRASIL, 1998).

Ao se aplicar o conceito de Saúde Única no Brasil, o fenômeno de mobilidade humana (rural-urbano) da década de 1950-60 trouxe um cenário de desestabilização as políticas públicas dos setores de infraestrutura e habitação, saneamento básico, educação e a própria saúde, principalmente em áreas periféricas dos centros urbanos (PERES, 2009; SILVA, 2011).

O ambiente rural pode ser definido pelo espaço de realização de atividades diretamente ligadas a natureza, já o urbano pela concentração populacional com vistas na divisão dos espaços e trabalhos e no acúmulo de capital (SILVA, 2011). A partir de meados de 1980, a mobilidade humana retorna, dessa vez com um perfil contrário ao anterior, chamado de “movimento pendular”, no qual as pessoas passaram a ter mais de um lugar para o convívio, por exemplo: um lugar para morar (mais próximo ao campo e com mais tranquilidade); um para o trabalho (grandes centros); um para os estudos e muitos lugares para o lazer (ecoturismo, *camping*, etc.) (CUNHA, 2005; MATOS, 2012).

Essas mudanças de cenários expõem modificações estruturais de mobilidade impactando diretamente em ecossistemas previamente equilibrados, podendo trazer à tona a emergência ou a reemergência de doenças (humanas e animais). Isso por que ao realizar esse movimento pendular são necessárias estruturas que possibilitam a introdução de animais sinantrópicos, garantindo a eles as cinco necessidades básicas para a sua subsistência e manutenção, sendo eles: abrigo, alimento, água,

acesso e atratividade (conceito dos 5 A's) (CHANNON *et al.*, 2006; von ZUBEN, 2022).

Esses animais sinantrópicos agem como controladores de outras pragas, mas de forma geral devido sua altas taxas de reprodução, abundância de alimentos e quantidade reduzida de predadores podem representar uma ameaça ecológica e sanitária (por serem portadores de agentes infecciosos), causando mais problemas do que benefícios a população humana (TORRES-CASTRO, 2017).

O controle de roedores em comunidades urbanas é uma das principais medidas de Saúde Pública implantadas, principalmente em áreas de baixa renda, com deficiência de infraestruturas de saneamento e coleta de lixo (AWONIYI *et al.*, 2022). O uso de rodenticidas químicos (de efeito imediato e curto prazo) são os mais utilizados, e podem ser associados aos métodos “manuais” (mais demorados e trabalhosos) como o fechamento dos canais de esgoto a céu aberto, captura por armadilhas, restrição de movimento por barreira. Portanto, o controle de roedores é consideravelmente dificultoso em ambientes urbanos, devendo ser estruturado um planejamento de manejo integrado para o controle de pragas (OYEDELE *et al.*, 2015).

Já os morcegos, apesar da credence popular em serem seres de mau agouro, são animais que não atacam pessoas, nem mesmo os hematófagos. O incomodo pelas espécies sinantrópicas (geralmente frugívoros e/ou insetívoros) é dado pelo ruído e mau odor produzido, e quando em grandes quantidades, os possíveis danos estruturais e econômicos aos locais habitados (SOLIMAN, 2021).

As interações homem-morcego estão cada vez mais frequentes e muitas vezes de forma indesejável, requerendo uma abordagem que diminua os riscos zoonóticos, mas que também possibilite a diversidade ecológica dos morcegos. Vale lembrar que esses animais estão protegidos por Lei Federal de Crimes Ambientais (nº 9605, de 12/02/1998), portanto, não podem ser exterminados. Assim, é essencial a realização dos registros dessa interação, dada os riscos à saúde permitindo assim mensurar e executar medidas educativas e decisões de manejo (BRASIL, 1998).

O manejo químico (uso de gel repelente) e o físico deve ser utilizado para evitar transtornos, assim como as ações de vedação das entradas aos abrigos, remoção da fonte alimentar, exclusão/retirada da colônia total (exige análise biológica por espécie). Não deve ser utilizado produtos como formol e/ou naftalina pois além de agredir os animais podem incapacitá-los favorecendo assim a exposição/contato com os animais ao chão (GUIA, 2018). Controle de morcegos é um procedimento caro a

curto prazo, porém com resultados sustentáveis a longo prazo, de acordo com o Programa de Controle e Profilaxia da Raiva (BRASIL, 2021) e o Programa Nacional de Controle da Raiva dos Herbívoros (PNCRH) (MAPA, 2022) e a Instrução Normativa IBAMA nº 141 de 2006 (IBAMA, 2006), o envio de morcegos (via coleta ambiental) é necessário para o monitoramento desta enfermidade, porém o cadastramento dos abrigos é fundamental para a vigilância desses sinantrópicos urbanos.

Sendo esses animais sinantrópicos (roedores e morcegos) importantes vetores e reservatórios de agentes infecciosos de interesse a Saúde Pública e Saúde Pública Veterinária, a seguir serão descritos vírus de importância investigados neste trabalho.

1.1. ROTAVÍRUS (RV)

Os rotavírus (RV) são responsáveis por causar doenças diarreicas aguda (desidratante) em mamíferos jovens e também em aves gerando danos as células intestinais durante a multiplicação viral (VLASOVA *et al.*, 2017; SIMSEK *et al.*, 2021). Sua transmissão ocorre via fecal-oral, pela presença de milhares de partículas no solo e/ou água, sendo responsável por uma alta taxa de mortalidade infantil no mundo (TROEGER *et al.*, 2018; RIGO-ADROVER *et al.*, 2019). De acordo com a Organização Mundial da Saúde há duas vacinas disponíveis para uso humano, a Rotarix® (GlaxoSmithKline biologicals, Rixensart, Belgium, cepa atenuada de G1P[8] RVA) e a RotaTeq® (Merck ; Co., Whitehouse Station, NJ, com 5 cepas dos genótipos G1P[5], G2P[5], G3P[5], G4P[5] e G6P[8]) (MATTHIJNSSENS *et al.*, 2010).

De acordo com o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), o rotavírus pertence à família *Reoviridae*, subfamília *Sedoreovirinae* (ICTV, 2022), seu material genético está disposto em RNA fita dupla não envelopado em aproximadamente 18.550 pb, fragmentado em 11 segmentos codificantes de proteínas estruturais (VP1-6) e não estruturais (NSP1-6) (ESTES ; GREENBERG, 2013; ICTV, 2022).

Sua classificação é feita com base na proteína estrutural VP6 sendo dividida em dez grupos (RVA-RVJ) (MATTHIJNSSENS *et al.*, 2011; BÁNYAI *et al.*, 2017, ICTV 2022). O primeiro grupo (RVA) é qual possui maior variabilidade genética, sendo necessário adotar uma notação/codificação, no qual: Gx(VP7) - P[x] (VP4) - Ix (VP6) - Rx (VP1) - Cx (VP2) - Mx (VP3) - Ax (NSP1) - Nx (NSP2) - Tx (NSP3) - Ex (NSP4) -

Hx (NSP5/6), (MATTHIJNSSENS *et al.*, 2008), e que até o momento conta com 41 genótipos em G e 57 genótipos em P definidos por amostras de seres humanos e diferentes espécies animais (<https://rega.kuleuven.be/cev/viralmetagenomics/virus-classification/rcwg>).

Rotavírus são predominantemente espécie-específicos, mas infecções heterólogas também ocorrem (YODMEEKLIN *et al.*, 2017). Seres humanos geralmente são acometidos pelas estirpes *Wa-like* e *DS1-like* (ambas RVA), particularmente sugestivas de uma origem zoonótica em relação a suínos e bovinos, respectivamente (MATTHIJNSSENS *et al.*, 2008). Também é possível verificar infecções humanas por genótipos e sorotipos animais distintos (LI *et al.*, 2016; YODMEEKLIN *et al.*, 2017).

Pouco se sabe sobre a relação da transmissão interespecies quando se trata de roedores e morcegos sinantrópicos, porém ambas as espécies são reconhecidas como potencial reservatório de rotavírus e devido a eficiência no modelo de transmissão de outros agentes infecciosos. A proximidade no contato a animais e pessoas, faz com que essas duas espécies sejam passíveis de atenção aos sistemas de vigilância da enfermidade (LI *et al.*, 2016; IANIRO *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2020a,b; SIMSEK *et al.*, 2021).

No Brasil, rotavírus já foram descritos em animais adultos e principalmente filhotes como: bovinos (ROCHA *et al.*, 2017; MEDEIROS *et al.*, 2020), aves (VILLARREAL *et al.*, 2006; BESERRA *et al.*, 2014), suínos (MOLINARI *et al.*, 2016; SILVA *et al.*, 2016; FLORES *et al.*, 2021). Para roedores, há um relato de RVA concomitante a uma granja de suínos (TONIETTI *et al.*, 2013), e outro na região Amazônica, porém os autores não descrevem se os animais de ambientes urbanos ou rurais (BARROS *et al.*, 2019).

Análises de metagenômica em *Rattus norvegicus* caracterizaram um RVA de considerada similaridade entre amostras encontradas frequentemente em animais e seres humanos (G3 - P[3] - N2), e segmentos genômicos inéditos para a espécie (I20-R11-C11-M10-A22-T14-E18-H13) (SACHSENROEDER *et al.*, 2014). Já em estudos de detecção molecular em diferentes países da Europa (Alemanha, República Tcheca e Hungria) foi possível uma única detecção dentre 51 animais amostrados, sendo resultante para o grupo G3 (NIENDORF *et al.*, 2020). Na China, a presença deste

rotavírus foi detectada em 1,06% (15/1416) dos roedores desta mesma espécie (LI *et al.*, 2016).

Em amostras de *Rattus rattus* encontradas em criações de suínos, caracterizou-se um RVA (G3-P[3]-I1-R11-C11-M10-A22-N18-T14-E18-H13), demonstrando uma combinação atípica de genótipos para a espécie (IANIRO *et al.*, 2017). Já para Islam e seus colaboradores (2022) em pesquisa de roedores e musaranhos foi detectado molecularmente RVA em 18,2% (4/22) dos *Mus musculus*, e 6,7% (6/90) dos *Rattus rattus* avaliados em Bangladesh.

Já os Rotavírus do grupo B (RVB) são morfologicamente idênticos aos do grupo A, sendo diferenciado apenas no âmbito antigênico e genético (VONDERFECHT *et al.*, 1994). Apesar de já ter sido descrita como causadora de quadros diarreicos em leitões (MÉDICI *et al.*, 2011), bezeros (NAKATA *et al.*, 1986), roedores (VONDERFECHT *et al.*, 1994) e seres humanos (FANG *et al.*, 1989), é possível verificar um vazio significativo em relação a pesquisas desta estirpe viral, no qual se faz necessário a melhor elucidação e entendimento sobre sua epidemiologia e prevalência.

O Grupo de Trabalho de Classificação de Rotavírus (RCWG) também classificou os RVB de acordo com a sua variabilidade, porém utilizando apenas oito dos 11 segmentos genômicos, no Quadro 1 é possível identificar os segmentos genômicos, seu respectivo genótipo, seu ponto de corte por nucleotídeo e sua variabilidade.

Quadro 1: Valores de ponto de corte de identidade de nucleotídeo dos segmentos genômicos do rotavírus B e seus respectivos genótipos, ponto de corte e variabilidade.

Segmento genômico	Genótipo	Ponto de corte de nucleotídeo (%)	Variabilidade de genótipos
VP7	G	80	24
VP6	I	81	13
VP3	M	70	4
NSP1	A	76	7
NSP2	N	75	4
NSP3	T	78	4
NSP4	E	70	4
NSP5	H	78	6

Fonte: Adaptado de SHEPHERD *et al.*, 2018.

Sabe-se que o RVB não é adaptável a cultura celular (VONDERFECHT *et al.*, 1994), o primeiro relato de isolamento foi em 1996, porém anos mais tarde o mesmo grupo revelou que o isolado (SKA-1) era mais semelhante ao grupo RVH do que ao genogrupo B (SANEKATA *et al.*, 1996; WAKUDA *et al.*, 2011).

Em recente estudo desenvolvido nas ilhas de São Cristóvão (Caribe) foi possível a detecção de anticorpo anti-RVB em roedores do gênero *Rattus* dispersos pela ilha concluindo que a necessidade da vigilância constante de microrganismos de potencial risco zoonótico em populações de roedores sinantrópicos (BOEY *et al.*, 2019).

Até o momento, suínos estão sendo considerados os principais hospedeiros deste vírus, visto uma maior diversidade genética de RVB detectável nesta espécie. Em análises filogenéticas, é possível verificar uma certa exigência do RVB com o seu hospedeiro, não demonstrando muitos eventos de rearranjo entre espécies, não significa que não haja transmissão interespecies de RVB, mas essa tem ocorrido em espécies muito próximas geneticamente e/ou que compartilhem de ancestrais comuns, principalmente levando em consideração fatores geográficos (SHEPHERD *et al.*, 2018).

As infecções por rotavírus também são descritas em morcegos (de diferentes famílias), o último grupo genômico dos rotavírus (RVJ) foi instaurado a partir de morcegos (*Miniopterus schreibersii*) da Sérvia (BÁNYAI *et al.*, 2017), mas o RVA continua sendo o mais encontrado, tendo como característica não ser patogênico a esses animais (ISLAM *et al.*, 2020a).

Em estudo realizado por Asano e colaboradores (2016) foi possível a realização de duas constelações parciais de RVA em morcegos brasileiros no Estado de São Paulo, sendo elas de *Molossus molossus* (G3-P[3]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T3-E3-H6) e de *Glossophaga soricina* (G20-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-T15-Ex-H15). Na região amazônica, 17,98% (32/178) dos morcegos pertencentes diferentes famílias, foram positivos para o mesmo grupo viral (BARROS *et al.*, 2019).

No Quênia também foi identificado constelação parcial de RVA a partir de fezes de morcegos frugívoros (*Eidolon helvum*): G25-P[6]-I15-R8(provisório)-C8-Mx-Ax-N8-T11-E2-H10 (ESONA *et al.*, 2010). Em Bangkok, os pesquisadores sugerem a possibilidade de um salto zoonótico interespecie (morcego-homem) de RVA em áreas

urbanas a partir do encontro de uma estirpe viral totalmente nova, devido a ação atípica encontrada de G3 (G3-P[10]-I3-R3-C3-M3-A9-N3-T3-E3-H6) (LESTARI *et al.*, 2022).

Morcegos como animais sinantrópicos tendo essa intensa proximidade interespecies (humano e outros animais) pode aumentar o risco de transmissão de cepas virais capazes de saltar espécies e infectar ou coinfetar novos hospedeiros. Essa também é a constatação de Simsek e seus colaboradores (2021), pois em seu trabalho com amostras de morcegos da Europa, América Central e África, demonstraram que apesar do baixo número de animais positivos para rotavírus a variabilidade genética amostrada identificou seis novos genótipos, com proximidades genéticas a outros rotavírus de mamíferos e outros morcegos.

1.2. CORONAVÍRUS (COV)

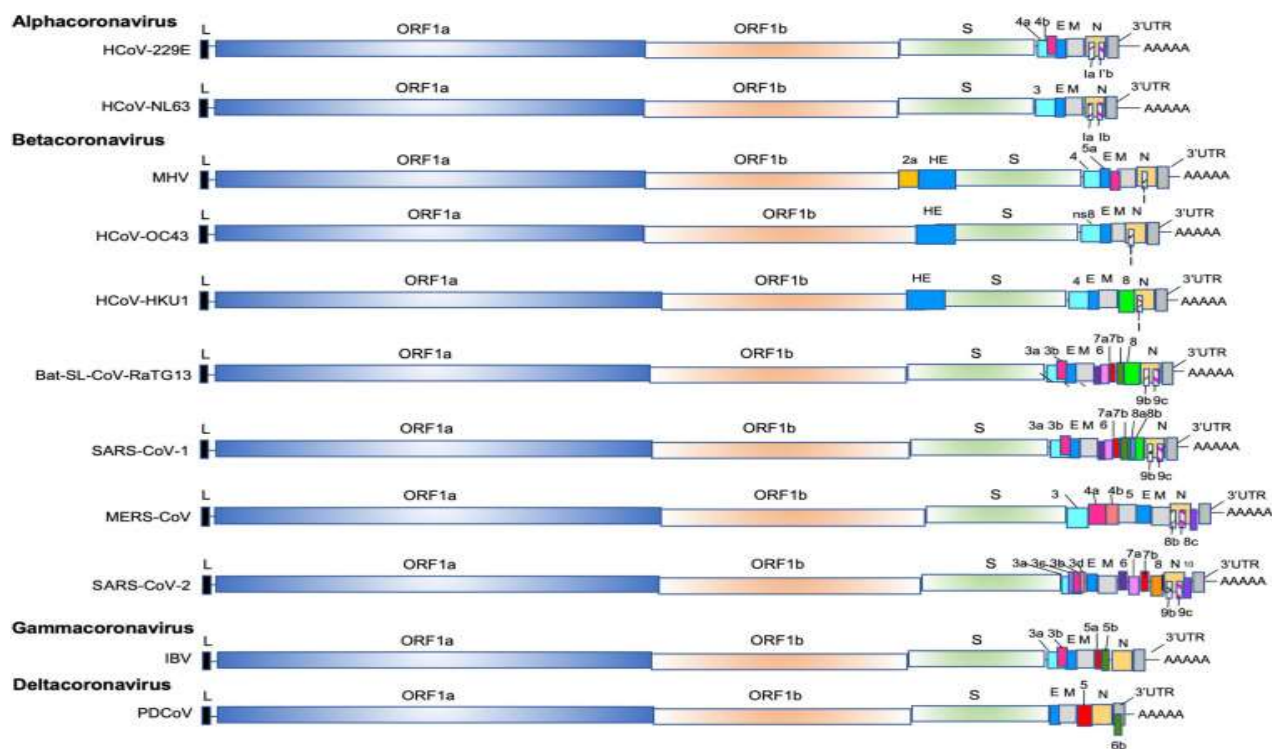
Coronavírus possuem uma ampla variedade de hospedeiros (mamíferos, répteis, aves, seres humanos) e sua sintomatologia distinta, de acordo com o tropismo viral, que pode ser respiratório, entérico, até mesmo hepático ou neurológico. Pertencente à família *Coronaviridae* são divididos em quatro gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gamacoronavirus* e o *Deltacoronavirus* (MONASTIRI *et al.*, 2021; ICTV, 2022). O gênero *Betacoronavirus*, que possui a maior quantidade de estirpes virais de importância a Saúde Pública, ainda possui uma divisão em cinco subgêneros *Embecovirus*, *Hibecovirus*, *Merbecovirus*, *Nobecovirus* e *Sarbecovirus* (TEMMAM *et al.*, 2022; ICTV, 2022).

Do seu isolamento (1937) a partir de embriões de galinha (BEAUDETTE, 1937) até hoje, o coronavírus causa considerados problemas para a Saúde Pública e Saúde Animal. Desde o início do século XXI, o coronavírus humano (HCoV) são contabilizados em sete, sendo dois *Alphacoronavirus* - α -CoV (HCoV-229E e HCoV-BL63) e cinco *Betacoronavirus* - β -CoV, dos quais, aliás, dois deles (HCoV-OC43, HCoV-HKU1) possuem como hospedeiro ancestral roedores e os demais membros deste grupo (SARS-CoV-1, MERS-CoV, SARS-CoV-2) derivaram de morcegos (BRANDÃO *et al.*, 2020; MONASTIRI *et al.*, 2021).

Os coronavírus são vírus envelopados com genoma RNA linear de sentido positivo, não segmentado, com 27-32kb sintetizando pelo menos três proteínas virais: (i) proteína espícula ou “*spike*” (S) - maior parte do genoma, aproximadamente dois terços; (ii) proteína de membrana (M); (iii) proteína do envelope (E); (iv) alguns coronavírus podem apresentar a hemaglutinina esterase (HE) - configuradas no último terço do genoma (PERLMAN ; NETLAND, 2009).

As proteínas M e E fazem parte da montagem viral (BELOUZARD *et al.*, 2012), já proteína S da atividade hemaglutinante, sendo o principal alvo dos anticorpos neutralizantes e da interação com as células do hospedeiro durante uma infecção (GÉLINAS *et al.*, 2001). Se divide em duas subunidades: S1 e S2 (HOLMES ; LAI, 1996; NAVAS-MARTIN ; WEISS, 2003) que são responsáveis pela ligação do vírus a receptores específicos, apresentando uma grande variabilidade que está associada a antigenicidade e patogenicidade do vírus, e pela conservação e constituição a haste das espículas (porção C-terminal), respectivamente (Figura 1).

Figura 1: Estrutura do genoma das principais espécies de coronavírus dentro dos quatro gêneros (*Alpha*, *Beta*, *Delta* e *Gamma*).



Fonte: Adaptado de Chazal, 2021.

A proteína S dos *Alphacoronavirus*, como o Vírus da Gastroenterite Transmissível - TGEV e Vírus da Diarreia Epidêmica de Suínos - PEDV, não é clivada em nenhum momento do ciclo de replicação do vírus, diferente de alguns *Betacoronavirus* e todos os *Gamacoronavirus*, que tem a clivagem da proteína S entre os domínios S1 e S2 durante o processo de entrada na célula. Tal 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).

Apesar do Coronavírus murino, também chamado de Vírus Hepatite Murina (M-CoV), ser usado como modelo para o estudo de CoV, há pouca informação sobre a prevalência e diversidade de CoVs em roedores (LANE ; HOSKING, 2010; FUNK *et al.*, 2009). Mais recentemente, novos α -CoV and β -CoV (LRNV, LAMV, LRLV e HKU24) foram identificados em roedores na China e Europa (LAU *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2015; TSOLERIDIS *et al.*, 2016), sugerindo que roedores possam carrear CoVs diversos e/ou não reconhecidos. Aliás, na China foi possível detectar recentemente a ocorrência de α -CoV e β -CoV infectando também roedores silvestres (*Apodemus chevrieri*) (GE *et al.*, 2017).

Com o avanço da pandemia da COVID-19, causada pelo agente SARS-CoV-2 ao final de 2019, muitas foram as pesquisas desenvolvidas envolvendo o coronavírus e todos os seus possíveis reservatórios (MIOT *et al.*, 2022). Como citado anteriormente, roedores também podem ser importantes reservatórios passíveis de transbordamento zoonótico e afetar seres humanos.

Roedores como *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* e *Mus musculus* não são considerados autóctones das ilhas Canárias (Oceano Atlântico) mas foram coletados por Monastiri e seus colaboradores (2021) e a partir de amostras fecais desses sinantrópicos conseguiram identificar 11 sequências de M-CoV.

Na China, em *Rattus norvegicus* foi possível detectar um membro do gênero *Betacoronavirus* (ChRCoV HKU24) diferente do frequentemente encontrado Coronavírus murino, e também distinto ao Coronavírus humano HKU. Esse achado é importante pois auxilia os pesquisadores no esclarecimento e entendimento da origem da linhagem A do *Betacoronavirus* em animais (LAU *et al.*, 2015). Após anos, outros investigadores com o intuito de avaliar Saúde Única na China, identificaram

potenciais CoVs zoonóticos a partir de roedores, com sequência (RCoV-GCCDC3) de alta similaridade (96%) a cepa HKU24 (LI *et al.*, 2021).

Frente ao cenário pandêmico de SARS-CoV-2 e da importância de contato e proximidade dos roedores como animais sinantrópicos, o questionamento da capacidade desses animais agirem como reservatórios ou fonte de infecção deste agente viral é preocupante.

Análises genômicas tem como intuito tentar elucidar o enigma se roedores são resistentes ou tolerantes ao novo coronavírus pandêmico (SARS-CoV-2) e King ; Singh (2021) sugerem que os roedores ao longo do processo evolutivo podem terem sido apresentados repetidas vezes a infecções por SARS-like, demonstrando locais de afinidade dos receptores de ACE2 (enzima conversora da angiotensina 2) ao novo coronavírus. Porém, por mais que evolutivamente próximo aos receptores de morcegos, suas adaptações em sítios específicos sugerem uma resistência a entrada celular por vírus do tipo SARS, sendo essa teoria reforçada pela apresentação de sintomatologia, mesmo que de modo leve (subclínico) (WENTWORTH *et al.*, 2004; FAGRE *et al.*, 2020; MONTAGUTELLI *et al.*, 2021).

Vale ressaltar que esse tipo de estudos e sistemas de vigilância frente as infecções por coronavírus (ou novas estirpes virais) são de grande importância, visto que as estirpes HKU1 e HCoV-OC43, tem como estirpes ancestrais os roedores (BRANDÃO *et al.*, 2020; KING ; SINGH 2021). Até o momento, foram realizadas vigilância de roedores sinantrópicos na Bélgica (COLOMBO *et al.*, 2021) e em Hong Kong que, embora tenha sido detectado por perfil sorológico a presença de exposição ao vírus SARS-CoV-2, não foi detectado o RNA viral nas amostras (MIOT *et al.*, 2022). Esse monitoramento deve ser continuado, pois há a possibilidade de que novas variantes sejam capazes de infectar esses roedores.

Morcegos e o coronavírus passaram a ser profundamente estudados a partir de 2002/2003 pela emergência da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-1) que totalizou 8096 mortes ao redor do mundo (DROSTEN *et al.*, 2003; DREXLER *et al.*, 2014).

Em dezembro de 2019, a Organização Mundial da Saúde foi comunicada pela cidade de Wuhan (China) após serem descritos casos de uma pneumonia severa emergente sem prévio relato em seres humanos. Após investigações essa

enfermidade foi chamada de COVID-19 e estava relacionada a um *Betacoronavírus* do tipo SARS-CoV-2 (OPAS, 2022), cuja semelhança genômica viral (96,1%) é relatada em morcegos *Rhinolophus affinis* (ZHOU *et al.*, 2020) e em pangolins (*Manis javanica*) considerados possíveis hospedeiros e/ou reservatórios, com 99,83–99,92% de similaridade ao vírus SARS-CoV-2 (LAM *et al.*, 2020).

A relação de morcegos e coronavírus causando surtos a espécies animais também se faz presente e importante. Em 2016, a Síndrome da Diarreia Aguda Suína (SADS-CoV) atingiu a província de Guangdong (China) dizimando 25 mil suínos (ZHOU *et al.*, 2018).

Na China é possível detectar mais de cem espécies de morcegos, contando com espécies endêmicas e de passagem e assim aumentando a possibilidade de interação e mistura gênica, devido ao fato de abrigarem uma ampla diversidade viral, inclusive de CoVs. Este país é um foco constante de vigilância viral para o mundo, visando elucidar a dinâmica de transmissão intra e interespecies (LI *et al.*, 2005; LATINNE *et al.*, 2020).

Exemplificando, em uma investigação de coronavírus em morcegos na China, obteve-se um *dataset* que incluía 701 sequências de α -CoV a partir de 41 espécies de morcegos e 528 sequências de β -CoV, sendo destas 273 completamente novas, contando com 97 relacionadas ao SARS-CoV em 15 gêneros diferentes de morcegos (LATINNE *et al.*, 2020).

1.3. HANTAVÍRUS (HV)

Os hantavírus pertencem ao gênero *Orthohantavirus* e fazem parte da família *Hantaviridae*, assim como outros três gêneros (*Loanvirus*, *Mobatvirus* e *Thottimvirus*) (ICTV, 2022). Esses vírus são do tipo segmentado com RNA linear, fita negativa e envelopado. Seus segmentos codificam de quatro a seis proteínas e são chamados de Grande (*Large*: 6,8 - 12 kb), Médio (*Middle*: 3,2 - 4,9 kb) e Pequeno (*Small*: 1 - 3 kb), este último pode ainda codificar proteínas não estruturais em algumas espécies de hantavírus (MUYANGWA *et al.*, 2015).

Em todo o mundo já foram relatadas mais de 50 espécies de hantavírus (ZOU *et al.*, 2011), porém nem todas causam doenças, como o *Prospect Hill vírus* (SPIROPOULOU *et al.*, 2007). Além de roedores, morcegos e toupeiras já foram bem

descritas como reservatórios destes agentes virais (OLIVEIRA *et al.*, 2014), a forma de transmissão é dada por mordidas (saliva) e principalmente pela inalação de partículas presentes nas excretas (fezes e urina) (GUTERRES ; LEMOS, 2018). Na literatura ainda há um relato de transmissão entre humanos, porém esta forma não é considerada frequente (WELLS *et al.*, 1997).

O gênero *Orthohantavirus* concentra a maior quantidade de espécies, parte delas patogênicas e com importância a Saúde Pública (KIM *et al.*, 2018), tendo sua distribuição fortemente associada a presença geográfica do roedor transmissor (famílias *Murinae*, *Avicolinae* e *Sigmodontinae*), podendo apresentar duas doenças distintas dependendo do roedor.

Conhecido como hantavirose do Velho Mundo (Europa e Ásia), os primeiros relatos da Síndrome da Febre Hemorrágica e Renal (HFRS) são datados em escrituras chinesas de 960 a.C., posteriormente na guerra da Coreia em 1951-1954, afetando e/ou levando a óbito mais de 3000 soldados (HJELLE ; TORRES-PÉREZ, 2010). A espécie relacionada a este surto foi a Hantaan vírus (HTNV), isolado em 1978 pela primeira vez (LEE *et al.*, 1981) vinculada ao roedor *Apodemus agrarius*, tendo sido detectado o vírus no sangue, urina, fezes e trato respiratório de animais, enquanto que em pessoas o contato direto com secreções também é a forma de transmissão aumentados pelo contato sexual e a exposição à saliva (TOLEDO *et al.*, 2021). Apesar de apresentar uma das formas mais graves da hantavirose, a dispersão do HTNV está restrita a áreas de plantio na China, Coreia e Rússia (YU ; TESH, 2014; HANSEN *et al.*, 2015).

Outras espécies associadas a essa síndrome: o Dobrava vírus (DOBV), tem o homem como um hospedeiro acidental na cadeia de transmissão, apesar de causar quadros de insuficiência renal (GOZALAN *et al.*, 2013), seus diferentes genótipos (Kurkino, Dobrava ou Sochi) determinam a taxa de mortalidade de 0,5 a 12% (HOFMANN *et al.*, 2010; WITKOWSKI *et al.*, 2016). O genótipo DOBV-Saaremaa até o momento, não apresenta sintomatologia em humano, sendo até considerado uma espécie distinta (KLEMPA *et al.*, 2013).

Já o Puumala vírus (PUUV) é considerado o agente viral, deste grupo, mais detectado na Europa Ocidental é disseminado pelo *Myodes glareolus*, favorecido pela vegetação rasteira dessa região, junto a coevolução vírus-hospedeiro (LAENEN *et al.*, 2019). Apresentando nefropatia epidêmica de forma moderada, pode proporcionar infecções subclínicas (REIL *et al.*, 2017).

O Seoul vírus, se apresenta de forma branda, porém caso não houver assistência médica adequada pode ter mortalidade em 1%, seu diferencial quanto a outros vírus do Velho Mundo é a distribuição cosmopolita de seus hospedeiros, a ratazana (*Rattus norvegicus*), seguido do rato-preto ou rato de telhado (*Rattus rattus*) (KIM *et al.*, 2018; LING *et al.*, 2019).

A investigação de roedores sinantrópicos urbanos na transmissão de hantavírus vem se tornando uma preocupação mundial, uma investigação feita nas ilhas Mayotte (Oceano Indico) demonstrou a prevalência de 18% (29/160) dos *Rattus rattus* investigados positivos para Síndrome da Febre Hemorrágica e Renal (FILIPPONE *et al.*, 2016). Na cidade de Buenos Aires (Argentina) um estudo sorológico feito após a captura de roedores em diferentes localidades, 11,9% (18/151) das ratazanas (*R. norvegicus*) apresentavam soroprevalência para o vírus Seoul, enquanto que nenhum dos 33 ratos dos *R. rattus* apresentaram sorologia (CUETO *et al.*, 2008).

No Brasil, de acordo com o Manual de Vigilância, Prevenção e Controle das hantaviroses do Ministério da Saúde (BRASIL, 2013) a prevalência de anticorpos anti-Hantaan em roedores sinantrópicos (*R. norvegicus* e *R. rattus*) variam entre 6-56%, sendo que Estado de São Paulo apresenta porcentagem de 14%. Além disso, em Belém - PA, foi possível realizar o isolamento do vírus Seoul a partir de ratazanas sinantrópicas, sendo importante ressaltar que em ambos os inquéritos (sorológico e de isolamento) não havia registros da doença humana.

O período de incubação varia entre 2-3 semanas, o vírus tem tropismo por células endoteliais (KRAUTKRÄMER ; ZEIR, 2014) e produz sintomatologia inespecífica (febre, dores de cabeça e muscular, náusea e/ou vômito) acompanhado de problemas respiratórios, tontura e diarreia. Dada a trombocitopenia, pode haver o desenvolvimento de petéquias, queda da pressão arterial o que inicia o processo renal, com a apresentação de uma fase de insuficiência renal com proteinúria, poliúria evoluindo para coagulação intravascular disseminada (JIANG *et al.*, 2017).

A Síndrome cardiopulmonar por hantavírus (HCPS) é outra patologia associada a agentes desse gênero, e conhecidas como hantaviroses do Novo Mundo (Américas). Os primeiros casos surgem após diversos fenômenos climáticos como o *El Niño* (OLIVEIRA *et al.*, 2014; GUTERRES ; LEMOS, 2018).

Vale lembrar que o entendimento da interação dos roedores nos biomas auxilia na determinação do potencial de risco de transmissão do vírus (AVSIC-ZUPANC *et*

al., 2016). No Brasil, os primeiros relatos são de 1993, com o Juquitiba vírus (SILVA *et al.*, 1997) e transmitido pelo roedor *Oligoryzomys nigripes*. No Brasil, é possível ainda identificar os seguintes vírus e reservatórios: (a) Araraquara vírus (*Necromys lasiurus*); (b) Castelo dos Sonhos vírus (*Oligoryzomys utiaritensis*); (c) Laguna Negra vírus (*Calomys callidus*); (d) Anajatuba vírus (*Oligoryzomys mattogrossae*); e o (e) Rio Mamoré vírus (*Oligoryzomys microtis*), entre outros (FERNANDES *et al.*, 2019).

Para o HCPS, o período de incubação varia entre 16 e 24 dias, com sintomatologia inicial inespecífica semelhante a HFRS, sendo diferenciado pela depressão e edema pulmonar e o comprometimento de órgãos linfoides (FERRES *et al.*, 2007) que pode evoluir e levar o paciente a um quadro de choque cardiovascular, sendo necessária hospitalização e ventilação mecânica (JIANG *et al.*, 2017). Trabalhos indicam que esta fase pulmonar dura aproximadamente uma semana com uma diurese espontânea, sequelas como dispneia e fraqueza são relatadas por pacientes (HJELLE ; TORRES-PÉREZ, 2010). Segundo dados do Ministério da Saúde do Brasil, 2060 pessoas se infectaram, com letalidade de 40,1% até 2017 (BRASIL, 2022).

Para os roedores, o vírus causa uma infecção crônica com sintomatologia branda como diminuição no crescimento (CHILDS *et al.*, 1989) e alterações renais (YANAGIHARA *et al.*, 1985), mas de modo geral é assintomática, devido provável coevolução dos roedores com o vírus por milhões de anos (PLYUSNIN *et al.*, 1996).

Esta enfermidade pode ser diagnosticada principalmente pelo histórico do paciente ao contato com roedores silvestres ou sinantrópicos, e laboratorialmente por detecção sorológica específica por ELISA (IgM ou IgG), ou mediante RT-PCR, oferecido pelos laboratórios de referência do Ministério da Saúde (BRASIL, 2022).

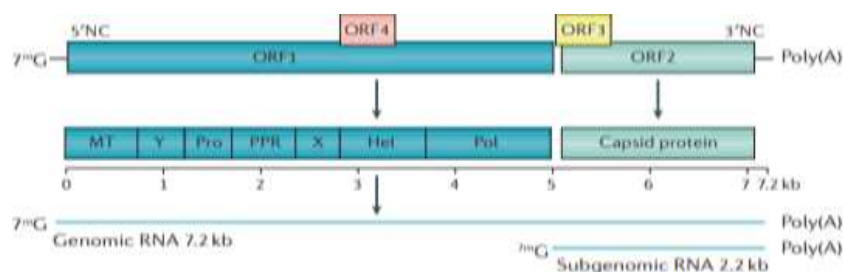
Para o conhecimento do autor, até o momento não há nenhuma vacina licenciada e disponível no mercado que previna as hantavirose. Sabe-se que há diversos testes clínicos em diferentes estágios para vacinas inativadas (monovalentes e bivalentes), vacinas de DNA e vacinas vivas atenuadas tanto para HFRS e HCPS, com eficácia em torno de 93,77 - 100% (MAES *et al.*, 2004; KRUGER *et al.*, 2011; VALDIVIESO *et al.*, 2017). Quanto ao tratamento, estudos promissores com o uso do antiviral Ribavirina têm demonstrado uma maior taxa de sobrevivência em ratos infectados com hantavírus (HUGGINS *et al.*, 1991; MAES *et al.*, 2004; JONSSON *et al.*, 2008).

1.4. HEPATITE E (HVE)

Descoberto na década de 1980 em fezes de pacientes após um surto de hepatite viral, negativos para os tipos A e B, na província de Kashmir (Índia), hoje essa estirpe viral está mundialmente dispersa (WONG *et al.*, 1980; KAR ; KARNA, 2020).

O vírus da hepatite E (HEV) pertence pertencente à família *Hepeviridae* (subfamílias: *Orthohepevirinae* e *Parahepevirinae*), apresentando-se como uma partícula não envelopada de 27-34 nm, um capsídeo icosaédrico, genoma expresso em 7,2kb de RNA linear, fita simples de sentido positivo (ICTV, 2022). Seu genoma pode ser transcrito a partir de três quadros aberto de leitura (*open reading frame - ORF*), sendo as duas primeiras responsáveis pela síntese de proteínas estruturais de replicação viral (helicase, RdRp) e de capsídeo, já a ORF3 é apenas encontrada nas partículas envelopadas do vírus, sendo capaz de manter a replicação e a sobrevivência do vírus no hospedeiro (KAR ; KARNA, 2020). Alguns genótipos de HEV podem apresentar uma quarta ORF, sendo esta responsável pela síntese da proteína estrutural RNA-dependente RNA polimerase (RdRp) (Figura 2).

Figura 2: Representação do genoma do vírus da hepatite E e as codificações em proteínas de cada quadro de leitura aberta (*open reading frame - ORF*). Sendo região 5' (não codificante - NC) composto por 7-metilguanossina (7mG) e a região 3'NC inclusa de uma cauda poliadenilada poly(A).



Fonte: Adaptado de KAMAR *et al.*, 2017.

A subfamília *Parahepevirinae* até o momento alberga apenas um gênero (*Piscihepevirus*) e um vírus que infecta somente peixes. Já a subfamília *Orthohepevirinae*, é subdivida em quatro gêneros (*Paslahepevirus (A)*, *Avihepevirus (B)*, *Rocahepevirus (C)* e *Chirohepevirus (D)*), sendo o gênero *Paslahepevirus* (ou

HEV-A) aquele que possui maior quantidade de variantes dentro das suas duas espécies descritas (ICTV, 2022).

Curiosamente, em seu isolamento a partir de fezes foi visualizado formas não envelopadas (BALAYAN *et al.*, 1983), mas sua forma envelopada pode ser detectada em quadros virêmicos (sangue) auxiliando a sobrevivência viral no hospedeiro, pois esta forma escapa da capacidade dos anticorpos em neutralizar o microrganismo (FENG ; LEMON, 2014). E para complementar, sua forma infecciosa é resistente podendo ser detectável após 28 dias em temperatura ambiente (JOHNE *et al.*, 2016).

As formas de transmissão conhecidas de HEV são: indireta e direta, vertical e horizontal. De uma forma geral, o vírus é transmitido com maior facilidade em locais com baixa infraestrutura e condições higiênicas, pois sua principal rota de transmissão é via fecal-oral, com alta excreção viral pelas fezes (KAMAR *et al.*, 2017; REUTER *et al.*, 2020). Água e solo podem atuar como vetores de transmissão, sendo responsáveis por diversos surtos e estimativa de 3,4 milhões de novos casos anualmente na África e Ásia (NAIK *et al.*, 1992; REIN *et al.*, 2012).

Países desenvolvidos também sofrem as consequências causadas pelo vírus da hepatite E, países como França, Inglaterra, Bélgica, Noruega, Luxemburgo e Alemanha apresentam quadros endêmicos com taxas de soroprevalência entre 10-60% de sua população (KAMAR *et al.*, 2012).

A relação com transmissão zoonótica também já foi relatada envolvendo suínos (MENG *et al.*, 1997, DENNER, 2019; REUTER *et al.*, 2020), dromedários (WOO *et al.*, 2014), roedores (MASAHARU *et al.*, 2020), morcegos (KOBAYASHI *et al.*, 2018). O consumo de produtos de origem animal crus e/ou mal cozido também são considerados fonte de transmissão viral, a inativação ocorre pelo cozimento a temperatura de 70°C por no mínimo 20 minutos antes de seu consumo (KAMAR *et al.*, 2017).

Também pode ocorrer a transmissão de forma direta entre humanos via sangue (transfusão ou produtos do sangue) e transplante de órgãos, e são passíveis de causar infecção assintomática, com sintomatologias leves a infecções crônicas. A transmissão vertical (transplacentária) pode ocorrer causando prejuízos a gestação e ao feto, inclusive com mortalidade fetal (KAR ; KARNA, 2020).

Apesar de haver uma vacina para HEV licenciada (Hecolin[®], Xiamen Inovax Biotech Co., Ltd.) (WU *et al.*, 2016) até o momento, ela não está disponível

comercialmente (WHO, 2022). Como terapia de tratamento a ribavirina vem sendo amplamente utilizada em protocolos de 3 a 6 meses (KAR ; KARNA, 2020).

Vitral e seus colaboradores (2005) detectaram anticorpos anti-HEV em dois dos quatro roedores analisados no Estado do Rio de Janeiro (Brasil), apesar do *n* amostral baixo, esses resultados já foram descritos e outras localidades em roedores sinantrópicos e silvestres (TSAREV *et al.* 1998; KABRANE-LAZIZI *et al.* 1999; ARANKALLE *et al.* 2001).

Apenas em 2010, na Alemanha, foi relatada a detecção do vírus da hepatite E em roedores (JOHNE *et al.*, 2010), desde então foi identificado em diversos outros roedores (sinantrópicos e silvestres) em diferentes partes do mundo (REUTER *et al.*, 2020). E em 2017, foi confirmada a primeira transmissão rato-humano em um paciente imunocomprometido após um transplante de órgãos em Hong Kong (China) (SRIDHAR *et al.*, 2018), e na Europa mais três casos dessa transmissão ativa de HEV por roedores foram relatados (RIVERO-JUAREZ *et al.*, 2022).

No Brasil, não há uma rotina investigativa de hepatite E, nem mesmo em quadros suspeitos de hepatite aguda, os primeiros estudos realizados envolvem comunidades (ribeirinhas, mineradores) expostas a condições baixas ou quase ausentes de infraestrutura de saneamento básico (PANG *et al.*, 1995; SOUTO *et al.*, 1997; ASSIS *et al.*, 2002).

Além de investigações em bancos de doação de sangue que confirmam a presença de anticorpos IgG anti-HEV em taxas de 2,0 - 8,6% (SANTOS *et al.*, 2002; CARRILHO *et al.*, 2005; PASSOS- CASTILHO *et al.*, 2015).

Pensava-se que o HEV comumente encontrado em roedores (*Orthohepevirus C*) não poderiam infectar seres humanos, visto que é apenas 50-60% semelhante ao HEV-A (típico de ser humano), mas há uma hipótese de que ambos os vírus possam ser resultados de vírus ancestrais de roedores (WANG ; YANG, 2022). Com isso, a vigilância constante se faz necessária considerando uma abordagem de Saúde Única, afinal há proximidade de animais sinantrópicos aos homens (QIAN *et al.*, 2022).

Drexler e seus colaboradores (2012) no primeiro trabalho com amostras (fecais, sangue, órgãos) de morcegos de diferentes continentes (Europa, América Central, África) encontraram 0,18% (7/3869: 85 morcegos de diferentes famílias) dos espécimes positivos, caracterizando uma nova espécie viral (hoje alocado ao gênero *Chirohepevirus*).

Estudos de metagenômica expressam a capacidade de morcegos agirem como reservatórios naturais de HEV-D, sendo descritos em pelo menos cinco famílias de quirópteros distribuídos em oito países, inclusive em materiais biológicos de uma possível rota extra-hepática como: fezes, fígado, rins, cérebro (WANG *et al.*, 2015; WU *et al.*, 2016; HARDMEIER *et al.*, 2021; WANG ; YANG, 2022).

Muito ainda precisa ser estudado e elucidado sobre a epidemiologia, evolução, diversificação e formas de dispersão dos HEV em animais sinantrópicos (roedores e morcegos) e sua relação as estirpes virais de seres humanos.

2. OBJETIVOS

2.1. GERAL

Investigar a presença de vírus de importância a Saúde Pública em amostras de animais sinantrópicos (roedores e morcegos) provenientes de ambientes urbanos e rurais do Estado de São Paulo, visando contribuir como um indicador para as ações em Saúde Pública e Saúde Animal, bem como uma discussão sobre aspectos ligados à epidemiologia destes agentes.

2.2. ESPECÍFICOS

- a. Pesquisar a ocorrência de rotavírus, coronavírus, hantavírus e hepatite E em amostras fecais de roedores sinantrópicos urbanos.
- b. Pesquisar a ocorrência de rotavírus, coronavírus e hepatite E em amostras de órgãos (pool de fígado, baço, pulmão e intestino) e de morcegos sinantrópicos;
- c. Confirmar possíveis achados de amostras positivas mediante a determinação da sequência de nucleotídeos dos produtos oriundos das reações de RT-PCR, caracterizando-as mediante análises filogenéticas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. AMOSTRAS CLÍNICAS

Para a realização de todos os procedimentos em laboratório, foram adotadas medidas de biossegurança recomendadas nos manuais internacionais (CDC,1994) para manipulação de amostras suspeitas, envolvendo o processamento de materiais clínicos em fluxo laminar até a inativação do material genético, uso equipamentos de proteção individual (aventais descartáveis, luvas descartáveis duplas, óculos de proteção e máscaras N95), bem como estrita desinfecção da cabine após o uso e dos respectivos materiais utilizados.

3.1.1. Roedores

Foram utilizadas amostras fecais de roedores urbanos (CEUA-USP: 1606200218 - ID 004956), sejam eles *Rattus rattus*, *Rattus norvegicus* e/ou *Mus musculus*, provenientes de locais delineados pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN), Divisão de Vigilância de Zoonoses (DVZ), Coordenadoria de Vigilância em Saúde (COVISA) da Prefeitura Municipal de São Paulo, em decorrência de procedimentos regulares de desratização municipal. As amostras estão listadas no Anexo 2, quanto a sua origem e espécies.

As amostras foram obtidas mediante a assinatura do "Termo de Doação de Amostras" foram colhidas por catação pelos técnicos da NVSIN e DVZ e armazenadas em microtubos de plástico, mantidas em gelo descartável durante o transporte, e armazenadas em freezer a temperatura de -20°C, junto ao Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia - LABMAS/VPS (FMVZ/USP) até o seu processamento. A UVIS e DVZ colheram e cederam as amostras durante os anos de 2018 e 2019, sendo interrompida durante o período da pandemia de COVID-19 instaurada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em março de 2020.

Para a identificação da espécie dos roedores foi utilizada o método de visualização do formato das fezes - cíbalas, de acordo com o Manual de Controle de

Roedores (BRASIL, 2002). A identificação de *Rattus norvegicus* (ratazana) baseia-se no formato de cápsula com extremidades rombudas (13-19 x 6 mm); para *Rattus rattus* (rato de telhado) o formato é fusiforme, ou seja, cíbalas mais delgadas e extremidades mais estreitas que o centro (8-13 x 5 mm); e para *Mus musculus* (camundongo) o formato é semelhante a bastonetes.

Após a identificação as amostras foram maceradas com hastes rígidas de plástico e submetidas ao processo de extração de ácidos nucleicos (descrita no item 3.2).

3.1.2. Morcegos

As amostras de morcegos utilizadas neste trabalho foram provenientes do serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo, Instituto Pasteur. Adicionalmente ao termo de aprovação da comissão de ética da Universidade de São Paulo (CEUA-USP: 1606200218 - ID 004956), o projeto foi também submetido e aprovado junto ao comitê de ética do Instituto Pasteur, sob o número IP 01/2020.

Tais amostras eram de morcegos sabidamente negativos para o vírus rábico e entregues congelados (sem o cérebro). Adotando todas as medidas recomendadas de biossegurança (item 3.1), foi realizada a necrópsia dos espécimes, com o intuito de separar as amostras em pools contendo fragmentos de pulmão, baço, intestino e fezes e fragmento de fígado, sendo macerados com hastes rígidas de plástico e submetidas ao processo de extração de ácidos nucleicos (a ser descrita no item 3.2).

Os morcegos analisados neste trabalho foram classificados de forma morfométrica por meio da chave de identificação de espécies descrita por Vizzoto ; Tadei (1973) e por Gregorin ; Taddei (2002) para quirópteros brasileiros. Também foram coletadas informações a respeito do gênero (macho/fêmea), a idade aproximada (filhote, jovem, adulto) de acordo com a fase de consolidação da articulação das asas, estas informações estão contidas no Anexo 3.

3.2. EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Para extração de ácidos nucleicos realizou-se suspensões fecais preparada na concentração de 50% (p/v) em água ultrapura previamente tratada com DEPC (dietilpirocarbonato) e posteriormente clarificadas por centrifugação a 12.000 g por 15 minutos a temperatura de 4°C, sendo utilizado somente o sobrenadante para as etapas subsequentes.

Como controles positivos foram utilizados soluções virais que estavam armazenadas em alíquotas (1,0 mL) no estoque de células do Laboratório de Biologia Molecular Aplicada e Sorologia (LABMAS/USP) em freezer a temperatura de -80°C, sendo os descritos a seguir: (i) célula MDBK (células renais caninas *Madin-Darby*) como controle exógeno as amostras de fezes de roedores, e assim verificar a qualidade de extração; (ii) BCoV (*Bovine coronavirus - Betacoronavirus*) como controle positivo para todas as reações de coronavírus; (iii) NCDV (*Nebraska Calf Diarrhea virus*) para controle de rotavírus do Grupo A; (iv) Amostra clínica de suíno (fezes) positiva e sequenciada para Hepatite E; (v) Hantavírus: devido a indisponibilidade de amostras-padrão, não foi utilizada nenhuma amostra como controle positivo, sendo considerados positivos aqueles encontrados em altura equivalente (em peso molecular) e necessariamente confirmados pelo sequenciamento de nucleotídeos; (vi) Rotavírus B: devido a indisponibilidade de amostras padrão, não foi utilizada nenhuma amostra como controle positivo, sendo considerados positivos aqueles encontrados em altura equivalente (em peso molecular) e necessariamente confirmados pelo sequenciamento de nucleotídeos; (vii) como controle negativo para as reações foi utilizado água ultra pura (NTC).

As extrações de RNA, para o diagnóstico e caracterização dos vírus, foram feitas mediante o uso do reagente *Trizol* (Invitrogen®) seguindo as instruções do fabricante, e o RNA extraído foi ressuspendido em 25 µL de água previamente tratada com DEPC e mantido congelado em freezer a temperatura de -80°C até o seu processamento.

3.3. REAÇÃO DE TRANSCRIÇÃO REVERSA (RT) E REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR)

As amostras foram submetidas à reação de transcrição reversa (RT) utilizando *primers* randômicos (Invitrogen®), de acordo com o protocolo do fabricante. Para tal, foi utilizado o protocolo de RT-mix com 4 µL de 10x M-MLV RT Buffer com DTT (SIGMA®); 2 µL de solução de dNTP a 10 mM; 1 µL de Random Primers (50 ng/µL - Invitrogen®); 1 µL da enzima M-MLV Reverse Transcriptase (Invitrogen®); 7 µL da amostra de RNA extraído; e água ultra-pura q.s.p. 20 µL. Submetendo a reação ao ciclo de temperatura de 37°C por 50 minutos seguido de temperatura de 80°C por 10 minutos. A pesquisa dos diferentes vírus foi feita mediante a reação em cadeia pela polimerase (PCR), utilizando protocolos específicos para cada agente viral que serão descritos a seguir.

3.3.1. *Beta actina* (β - *actina*)

Todas as amostras (roedores e morcegos) foram submetidas a uma PCR para amplificação do gene β -actina, que por ser uma região altamente conservada das células eucarióticas foi utilizada como controle endógeno das reações, portanto aquelas que não obtivessem amplificações não seriam analisadas aos alvos virais.

Nas amostras fecais de roedores foram adicionados 50 µL célula MDBK (células renais caninas *Madin-Darby*) e submetidas ao procedimento de extração com *Trizol* (Invitrogen®) (item 3.2) e a reação de transcriptase reversa pela enzima M-MLV *Reverse Transcriptase* (Invitrogen®) (item 3.3).

As condições utilizadas foram adaptadas do trabalho de Ono e colaboradores (2017) utilizando o conjunto de primers descritos adaptados a uma reação convencional de PCR, sob o protocolo descrito no Quadro 2.

Quadro 2: *Primers* e protocolos de termo ciclagem e de mix utilizados para a detecção da PCR para o gene β -actina.

Reação PCR para gene β -actina - amplicon 113 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
act β for (+)	ATTGGCAACGAGCGGT	Ono <i>et al.</i> , 2017
act β rev (-)	ACGTCACTTCATGATGGA	

Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 40 ciclos de (95°C - 30 seg; 60°C - 1 min; 72°C - 30 seg) / 72°C - 10 min
Protocolo de Mix: 1X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,2 mM de dNTP (10mM); 1,5 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,4µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 1,25U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); e água ultra-pura q.s.p. 20 µL. Template: 1,5 µL de cDNA para amostras fecais de roedores e 1,0 µL de cDNA para as amostras de pool de órgãos dos morcegos.

3.3.2. Rotavírus

Considerando a alta variabilidade do agente viral, foi utilizado como triagem à amplificação de um fragmento de um gene conservado dos rotavírus A, codificador da proteína estrutural NSP5 (SALEM *et al.*, 2010), também levando em consideração achados prévios na detecção de rotavírus em amostra de roedores (TONIETTI *et al.*, 2013) e em morcegos (ASANO *et al.*, 2016). No Quadro 3 estão descritas as sequências dos primers utilizados, assim como as condições de mix de PCR e de termo ciclagem.

Quadro 3: *Primers* e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção em nested-PCR dos genes codificadores de proteínas não estruturais (NSP5) do Rotavírus grupo A.

Reação PCR - gene da proteína não estrutural NSP5 (RVA)- amplicon 317 bp		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3'):	Referência
P1 (+)	GGCTTTTAAAGCGCTACAGTGATGTCTCT	SALEM <i>et al.</i> , 2010
P2 (-)	GGTCGTGATTGTGTTGATGAATCCATAGA	
Termo ciclagem: 94°C -4 min / 40 ciclos de (94°C - 1 min; 60°C - 1 min; 72°C - 1 min) / 72°C -5 min		
Protocolo de Mix: 1,25X Buffer (10x Tampão PCR); 0,4mM de dNTP (10mM); 2,0mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5µL template e água ultra-pura q.s.p. 25µL.		
Reação em nested-PCR para RVA - gene da NSP5 (RVA) - amplicon 208 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3'):	Referência
P3 (+)	CTCAGCATTGACGTAACGAGTCTTCC	SALEM <i>et al.</i> , 2010
P4(-)	TGAGTGGATCGTTTGAAGCAGAATCAGA	
Termo ciclagem: 94°C - 4 min / 30 ciclos de (94°C - 30 seg; 60°C - 1 min; 72°C -1 min) / 72°C -5 min		
Protocolo de Mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,4 mM de dNTP (10mM); 2,00 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,0 µL de template (resultado da PCR) e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

A pesquisa de Rotavírus do grupo B foi realizada somente para amostras de roedores, uma vez que já foram extensamente analisados (VONDERFECHT *et al.*,

1994, SALIM *et al.*, 1995; SUZUKI *et al.*, 2012; BOEY *et al.*, 2019), utilizando-se com alvo dois fragmentos de diferentes regiões dos genes VP1 (Quadro 4) e VP6 (Quadro 5), em reações separadas de PCR.

Quadro 4: *Primers* e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção dos genes codificadores de proteínas estruturais VP1 de rotavírus B em roedores sinantrópicos, tendo como produto final um fragmento de 340 pb.

Reação PCR - gene da proteína estrutural VP1 (RVB) - amplicon 340 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
GBRVF (+)	ATATTTAACTGTTCTCATCAAC	SACHSENROEDER <i>et al.</i> , 2014
GBRVR (-)	AATAATCGTTGGCAATCAGATC	
Termo ciclagem: 95°C - 3 min / 40 ciclos de (95°C - 1 min; 48°C - 2 min; 72°C - 1 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de Mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,40 mM de dNTP (10mM); 2,00 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

Quadro 5: *Primers* e protocolos de termo ciclagem utilizados para a detecção dos genes codificadores de proteínas estruturais VP6 de rotavírus B em roedores sinantrópicos, tendo como produto final um fragmento de 606 pb.

Reação PCR - gene da proteína estrutural VP6 (RVB) - amplicon 606 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
GB6-1 (+)	GGTTTAAATAGCCCAACCGGTG	AHMED <i>et al.</i> , 2004
GB6-3 (-)	TACAACCCCTTTATTACCTG	
Termo ciclagem: 95°C - 3 min / 40 ciclos de (95°C - 1 min; 50°C - 1,5 min; 72°C - 1,5 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de Mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,40 mM de dNTP (10mM); 2,00 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

3.3.3. Coronavírus

Pela ampla variabilidade de coronavírus, optou-se pela realização da triagem com reação de PCR para uma detecção genérica, conhecidos como ensaios “Pancoronavírus” com alvo em ORF1b do gene RdRp (ESCU TENAIRE *et al.*, 2007) (Quadro 6), e a outra trata-se de uma reação de *nested* PCR, tendo também como alvo o gene, onde a primeira amplificação foi descrita por Chu *et al.* (2011) e a segunda por Woo *et al.* (2005) (Quadro 7). Caso qualquer amostra positiva a estas

reações, foi submetida a uma reação adicional para o grupo *Betacoronavírus*, tendo como alvo uma região conservada do gene RdRp (STEPHENSEN *et al.*, 1999), cujos componentes e condições estão descritas no Quadro 8.

Quadro 6: *Primers* e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de PCR ao gene ORF1b para detecção genérica do coronavírus, tendo como resultado um fragmento de 179 pb.

Reação PCR - ORF1b - amplicon 179 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3'):	Referência
11Fw (+)	TGATGATGSNGTTGTNTGYTAYAA	ESCUTANAIRE <i>et al.</i> , 2007
13RV (-)	GCATWGTRTGYTGNGARCARAATTC	
Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 50 ciclos de (94°C - 40 seg; 50°C - 40 seg; 72°C - 40 seg) / 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 1,8 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 1,5U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

Quadro 7: *Primers* e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de nested PCR do gene RNA dependente RNA polimerase (RdRp) para detecção genérica de coronavírus, resultando em um fragmento de 440 pb.

Reação PCR - gene RdRp - amplicon 660 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3'):	Referência
COV FW (+):	GGKTGGGAYTAYCCKAARTG	CHU <i>et al.</i> , 2011
COV RV (-):	TGYTGTSWRCARAAYTCRTG	
Termo ciclagem: 94°C - 3 min / 40 ciclos de (94°C - 1 min; 48°C - 1 min; 72°C - 1 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 1,8 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 1,5U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		
Reação nested-PCR - gene RdRp - amplicon 440 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3'):	Referência
CHINA FW (+):	GGTTGGGACTATCCTAAGTGTGA	WOO <i>et al.</i> , 2005
CHINA RV (-):	CCATCATCAGATAGAATCATCATA	
Termo ciclagem: 94°C - 3 min / 40 ciclos de (94°C - 1 min; 48°C - 1 min; 72°C - 1 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,50 mM de dNTP (10mM); 1,8 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 1,0 µL de template (resultado da PCR) e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

Quadro 8: *Primers* e protocolos de mix e termo ciclagem utilizados para a detecção em reação de PCR para o gene do Betacoronavírus (gene RdRp) codificadora de proteínas estruturais de coronavírus (CoV), resultando em um fragmento de 250 pb.

Reação em PCR para gene RdRp Betacoronavírus - amplicon 250 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
4Bm (+)	TCACAYTTWGGATARTCCCA	STEPHENSEN <i>et al.</i> , 1999
2bp (-)	ACTCARWTRAATYTNAAATAYGC	
Termo ciclagem: 94°C - 3 min / 6 ciclos de (94°C - 1 min; 40°C - 2 min; 72°C - 1 min) e 34 ciclos de (94°C - 1 min; - 50°C - 1,5 min; 72°C - 1 min)/ 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 1,8 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 1,5U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

3.3.4. Hepatite E

Para a detecção deste vírus, foi utilizada uma reação de nested-PCR visando a detecção/amplificação de um fragmento da ORF1 do vírus (WANG *et al.*, 1999), descritos no Quadro 9, junto com seus protocolos de termociclagem e de *mix*.

Quadro 9: *Primers* utilizados para a detecção em reação de nested - PCR do gene ORF1 do vírus da hepatite E, resultando em fragmento de 287 pb.

Reação de PCR para HEV - segmento da ORF1 - amplicon 418 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
ORF1-F1 (+)	CTGGCAYACTACTGCYATTGAGC	WANG <i>et al.</i> , 1999
ORF1-R1 (-)	CTGCCYTRGCGAATGCTGTGG	
Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 40 ciclos de (95°C - 1 min; 54°C - 2 min; 72°C - 1 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,25 mM de dNTP (10mM); 2,0 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		
Reação de nested-PCR para HEV - segmento da ORF1 - amplicon 287 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
ORF1-F2 (+)	CCATCRARRCAGTAAGTGCGGTC	WANG <i>et al.</i> , 1999
ORF1-R2 (-)	GGCAGWRTACCARCGCTGAACATC	
Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 40 ciclos de (95°C - 1 min; 55°C - 1,5 min; 72°C - 1,5 min) / 72°C - 10 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,25 mM de dNTP (10mM); 2,0 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,5 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,75U de Platinum Taq polimerase (Invitrogen®); 1,0 µL de template (resultado da PCR) e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

3.3.5. Hantavirus

Foram testadas somente as amostras de roedores sinantrópicos, para duas diferentes reações de PCR, uma para a detecção de Hantavirus do grupo do Velho Mundo (Quadro 10), e outra, no formato de nested-PCR, para amostras do Novo Mundo (Quadro 11).

Quadro 10: *Primers* e condições de termo ciclagem e das reações utilizadas para a detecção por PCR de fragmento do gene S de hantavírus do grupo de Velho Mundo em roedores sinantrópicos.

Reação de PCR - gene do segmento S - Hantavirus Velho Mundo - amplicon 250 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
HANTAV1U (+)	GWGGVCARACAGCWGAYT	AITICHOU <i>et al.</i> , 2005
HANTAV1L (-)	TCCWGGTGTAAADYTCHTCWGC	
Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 45 ciclos de (95°C - 30 seg; 50°C - 30 seg; 72°C - 1 min) / 72°C - 5 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 2,5 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,125U de Platinum Taq polimerase (<i>Invitrogen</i> ®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

Quadro 11: *Primers* e condições de termo ciclagem e das reações utilizadas para a detecção por nested-PCR para detecção de fragmento do gene S de hantavírus do grupo do Novo Mundo em roedores sinantrópicos.

Reação de PCR - gene do segmento S - Hantavirus Novo Mundo		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
F166–189 (+)	AGCACATTACAAAGCAGACGGGCA	RABONI <i>et al.</i> , 2005
R1054–1071 (-)	AGCCATGATTGTGTTGCG	
Termo ciclagem: 95°C - 5 min / 40 ciclos de (95°C - 30 seg; 55°C - 30 seg; 72°C - 30 seg) / 72°C - 7 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 2,5 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,125U de Platinum Taq polimerase (<i>Invitrogen</i> ®); 2,5 µL de template e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		
Reação de nested-PCR - gene do segmento S - Hantavirus Novo Mundo - amplicon 417 pb		
Primer (polaridade)	Sequência (5' - 3')	Referência
F274–291 (+)	CCAGTTGATCCAACAGGG	RABONI <i>et al.</i> , 2005
R664–690 (-)	TATGATATTCCTTGCCTTCACTTGGGC	
Ciclagem: 95°C - 5 min / 40 ciclos de (95°C - 30 seg; 55°C - 30 seg; 72°C - 30 seg) / 72°C - 7 min		
Protocolo de mix: 1,25X Buffer (10x Tampão de PCR); 0,5 mM de dNTP (10mM); 2,5 mM de MgCl ₂ (50 mM); 0,625 µM de cada primers (forward e reverse, concentrados a 10 µM), 3,125U de Platinum Taq polimerase (<i>Invitrogen</i> ®); 1,0 µL de template (resultado da PCR) e água ultra-pura q.s.p. 25 µL.		

3.4. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

Um volume de 5 µL de cada produto oriundo das reações de PCR foi analisado por eletroforese em gel de agarose a 1,5% (p/v), em voltagem fixa de 100 V, em tampão TRIS-borato 0,045M; EDTA 0,001M pH 8,0, corando o gel com SYBR Safe DNA gel stain (Invitrogen®), de acordo com instruções do fabricante. Os géis foram fotografados no fotodocumentador Syngene Ingenius Gel Documentation System (Syngene, Frederick, USA).

Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram no gel amplicons de tamanhos previstos nas respectivas referências, tendo como indicador de tamanho o uso de DNA ladder 100pb (Invitrogen®) nas canaletas esquerda e direita dos géis.

3.5. REPRODUTIBILIDADE

Antes do emprego efetivo dos primers nas reações de PCR, todos eles foram testados *in silico*, buscando verificar a sua identidade frente a diferentes sequências, especialmente murinas e/ou de quirópteros. Para isso, foram importadas sequências nucleotídicas do Genbank junto ao programa Bioedit 7.1.3.0 (THOMPSON *et al.*, 1997), de modo a realizar o alinhamento para cada alvo gênico com o software ClustalW 1.81 (THOMPSON *et al.*, 1994). Em seguida foi feita a procura das regiões alvo e observadas eventuais variações entre os primers e sequências que elas poderiam apresentar.

Para cada amostra, foram realizadas pelo menos 3 repetições da PCR em dias diferentes, e em todas utilizando os respectivos controles para cada vírus. Adicionalmente em algumas situações foram feitos ajustes nos diferentes procedimentos para melhoria da qualidade da banda, como: (a) aumento da concentração do gel de agarose para melhor separação das bandas; (b) reamplificação dos produtos de PCR; e (c) reamplificação de produtos amplificados extraídos da banda específica presente no gel de agarose (item 3.6).

3.6. SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

Os produtos de PCR considerados positivos (amplicons apresentando ao gel a mesma altura dos controles de reação) foram submetidos à reação de sequenciamento de nucleotídeos pelo método de Sanger. Para isso, dois métodos foram utilizados de acordo com as recomendações dos fabricantes: (i) em caso de bandas múltiplas foram purificados diretamente do gel de agarose, tendo o corte realizado a alturas específicas das bandas observadas utilizando o kit Illustra GFX PCR DNA e Gel Band Purification (GE Healthcare™); (ii) em caso de banda única, o reagente Exo-Sap it (USB®) foi utilizado diretamente ao tubo de reação da PCR.

Posteriormente foi realizado as reações de sequenciamento bidirecional, conforme a reação a seguir: 1 µL de reagente Big-Dye 3.1 (Applied Biosystems™), 1,5 µL de tampão de sequenciamento, 5 µM de cada primer (forward e/ou reverse) e 7,0 µL do DNA de interesse para uma reação final com volume de 10 µL. Amostras foram então submetidas em termo ciclador a 40 ciclos de 96°C por 1 minutos, 50°C por 15 segundos, 60°C por 4 minutos e rampa de 1°C por segundo em todas as etapas. Em seguida, submetidas as reações de precipitação para remoção de terminadores não incorporados, sendo a reação feita com EDTA e álcool (para amplicons maiores que 300 pb) ou reação Acetato de Sódio e álcool (para amplicons menores que 300 pb), sendo analisados pelo sequenciador automático ABI-3500 (Applied Biosystems™), de acordo com as instruções do fabricante.

4. RESULTADOS

4.1. ROEDORES SINANTRÓPICOS

Entre abril de 2018 e dezembro de 2019 foram fornecidas pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN) da Prefeitura Municipal de São Paulo, 108 amostras de fezes de roedores sinantrópicos de 20 pontos de coleta em decorrência aos procedimentos regulares de desratização, distribuídas em sub-regiões do município de São Paulo -SP (Figura 3).

As amostras foram colhidas em ambientes domésticos e peridomésticos de regiões onde o NVSIN procedia com as medidas de desratização (pulverização, iscas, entre outras). A identificação das espécies de roedores foi realizada pela visualização das características das cibalas (fezes) (BRASIL, 2002), obtendo 24,07% (26/108) representativos de rato de telhado (*Rattus rattus*), e 75,93% (82/108) de ratazanas (*Rattus norvegicus*). Nenhum exemplar de *Mus musculus* (camundongo) foi observado nos exemplares fornecidos.

Quanto as reações de PCR para roedores, das 108 amostras testadas ao gene da β - actina (item 3.3.1; Quadro 2), todas resultaram em amplicon de aproximadamente 113 pares de base, julgadas positivas e passíveis de testagem aos alvos virais apresentados a seguir:

Figura 3: Pontos de coleta de amostras de roedores sinantrópicos pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN) da Prefeitura Municipal de São Paulo, em procedimentos regulares de desratização entre 2018 e 2019.



Fonte: Gravinatti (2022).

i) Rotavírus

- Das 108 amostras testadas por nested-PCR para o gene NSP5 (RVA) (SALEM *et al.*, 2010) (item 3.3.2; Quadro 3), todas as amostras testadas resultaram negativas;

- Para a reação de PCR aos genes VP1 e VP6 do rotavírus B (item 3.3.2; Quadro 4 e 5), todas as amostras foram negativas;
- Controles: NCDV, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;
- O resultado negativo das amostras permaneceu também após todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5.

ii) Coronavírus

- Das 108 amostras testadas aos protocolos de PCR (Quadro 6) e nested-PCR (Quadro 7) para detecção de Coronavírus (item 3.3.3) pelos ensaios de detecção genérica (Pancoronavírus) e alvo do grupo *Betacoronavírus* resultaram em amostras negativas;
- Controles: BCoV, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;
- O resultado negativo das amostras permaneceu também após todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5.

iii) Hepatite E

- Das 108 amostras testadas a reação de nested-PCR para hepatite E (item 3.3.4; Quadro 9), todas resultaram negativas;
- Controles: Amostra clínica positiva, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;
- O resultado negativo das amostras permaneceu também após todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5.

iv) Hantavírus Velho e Novo mundo

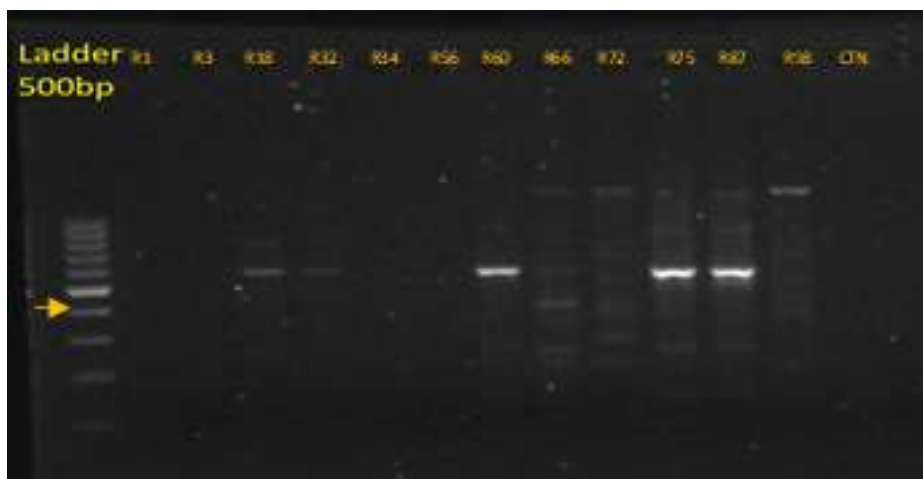
- Das 108 amostras testadas a reação de PCR para o grupo de Hantavírus do Velho Mundo (item 3.3.5; Quadro 10), teve como resultado todas as amostras negativas;

- De todas as amostras de roedores testadas a reação de nested-PCR ao grupo de Hantavírus do Novo Mundo (item 3.3.5; Quadro 11), o resultado resultou em amostras negativas, embora tenham apresentado bandas múltiplas de peso molecular diferentes do desejado (Figura 4);

- Controles: β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;

- O resultado negativo das amostras permaneceu também após todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5.

Figura 4: Eletroforese em gel de agarose 1,5% para Hantavírus (gene S para o complexo da Síndrome cardiopulmonar - Novo Mundo). À esquerda está o padrão de tamanho de fragmentos (Ladder) com banda mais brilhante em 500 pb. O Produto esperado seria de 417 pb (seta amarela), não foram observadas bandas nas amostras clínicas com tamanho de 417pb, embora tenha sido observas ampliações inespecíficas (aproximadamente 550 pb) em amostras de roedores sinantrópicos testadas (R18, R32, R60, R75, R87).



Fonte: Gravinatti (2022).

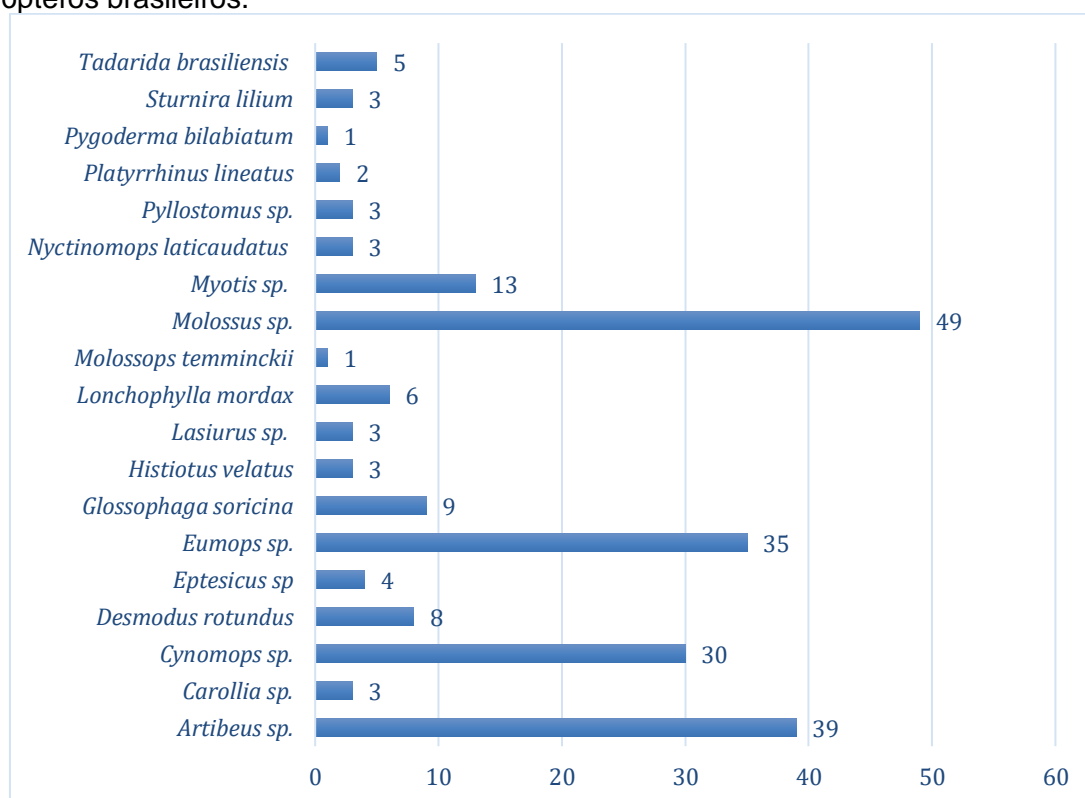
4.2. MORCEGOS

Foram recebidos 220 espécimes de morcegos, sabidamente negativos para o vírus rábico, selecionados aleatoriamente de diferentes espécies e localidades, provenientes do serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo (Instituto Pasteur).

Para a avaliação morfológica, os animais foram submetidos a chave de identificação de espécie (GREGORIN ; TADDEI, 2002) (Figura 5), resultando nos gêneros: *Artibeus sp.* - frugívoro e insetívoro (17,73% - 39/220); *Carollia sp.* - frugívoro

e insetívoro (1,36% - 3/220); *Cynomops sp.* - insetívoro (13,64% - 30/220); *Desmodus rotundus* - hematófago (3,64% - 8/220); *Eptesicus sp.* - insetívoro (1,82% - 4/220); *Eumops sp.* - insetívoro (15,91% - 35/220); *Glossophaga soricina* - nectarívoro e insetívoro (4,09% - 9/220); *Histiotus velatus* - insetívoro (1,36% - 3/220); *Lasiurus sp.* - insetívoro (1,36% - 3/220); *Lonchophylla mordax* - onívoro (2,73% - 6/220); *Molossops temminckii* - insetívoro (0,45% - 1/220); *Molossus sp.* - insetívoro (22,27% - 49/220); *Myotis sp.* - insetívoro (5,91% - 13/220); *Nyctinomops laticaudatus* - insetívoro (1,36% - 3/220); *Phyllostomus sp.* - onívoro (1,36% - 3/220); *Platyrrhinus lineatus* - frugívoro e insetívoro (0,91% - 2/220); *Pygoderma bilabiatum* - frugívoro (0,45% - 1/220); *Sturnira lilium* - frugívoro (1,36% - 3/220); *Tadarida brasiliensis* (2,27% - 5/220) - insetívoro.

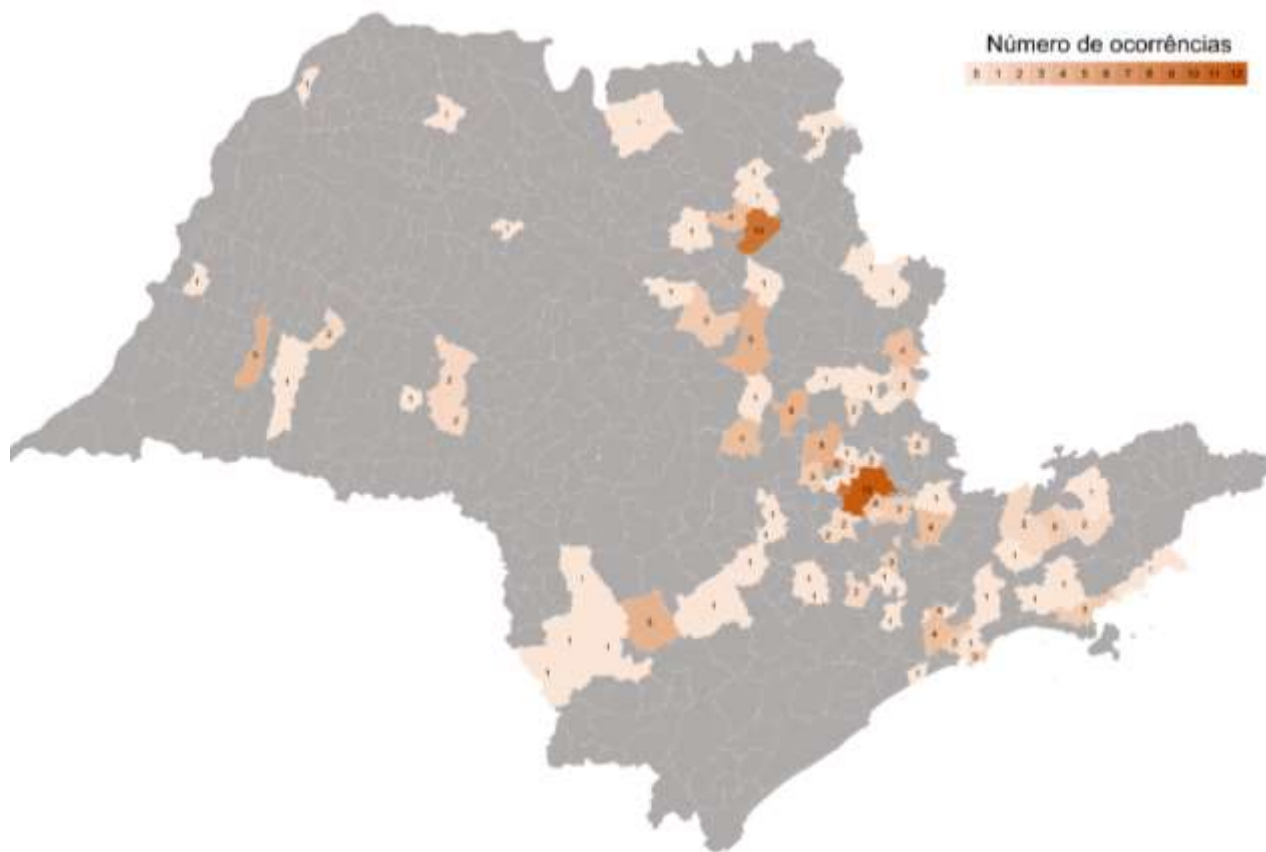
Figura 5: Distribuição por gênero e/ou espécie dos morcegos testados neste estudo, identificados pelas chaves de Vizzoto ; Taddei (1973) e Gregorin ; Taddei (2002) para quirópteros brasileiros.



Fonte: Gravinatti (2022).

A Figura 6 demonstra a distribuição dos morcegos pelos municípios do Estado de São Paulo, outras informações, entre elas o município de origem da amostra, estão disponíveis no Anexo 3.

Figura 6: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP com a distribuição da origem geográfica dos espécimes de morcegos testados neste estudo. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.



Fonte: Gravinatti (2022)

Quanto as reações de PCR para morcegos, das 220 amostras testadas ao gene da β -actina (item 3.3.1; Quadro 2), todas apresentaram amplicons de aproximadamente 113 pares de base, julgadas positivas e passíveis de testagem aos alvos virais apresentados a seguir:

i) Rotavírus

- Das 220 amostras testadas para o gene NSP5 do Rotavírus do grupo A (item 3.3.2; Quadro 3), foi possível detectar 5,45% (12/220) de positivos;

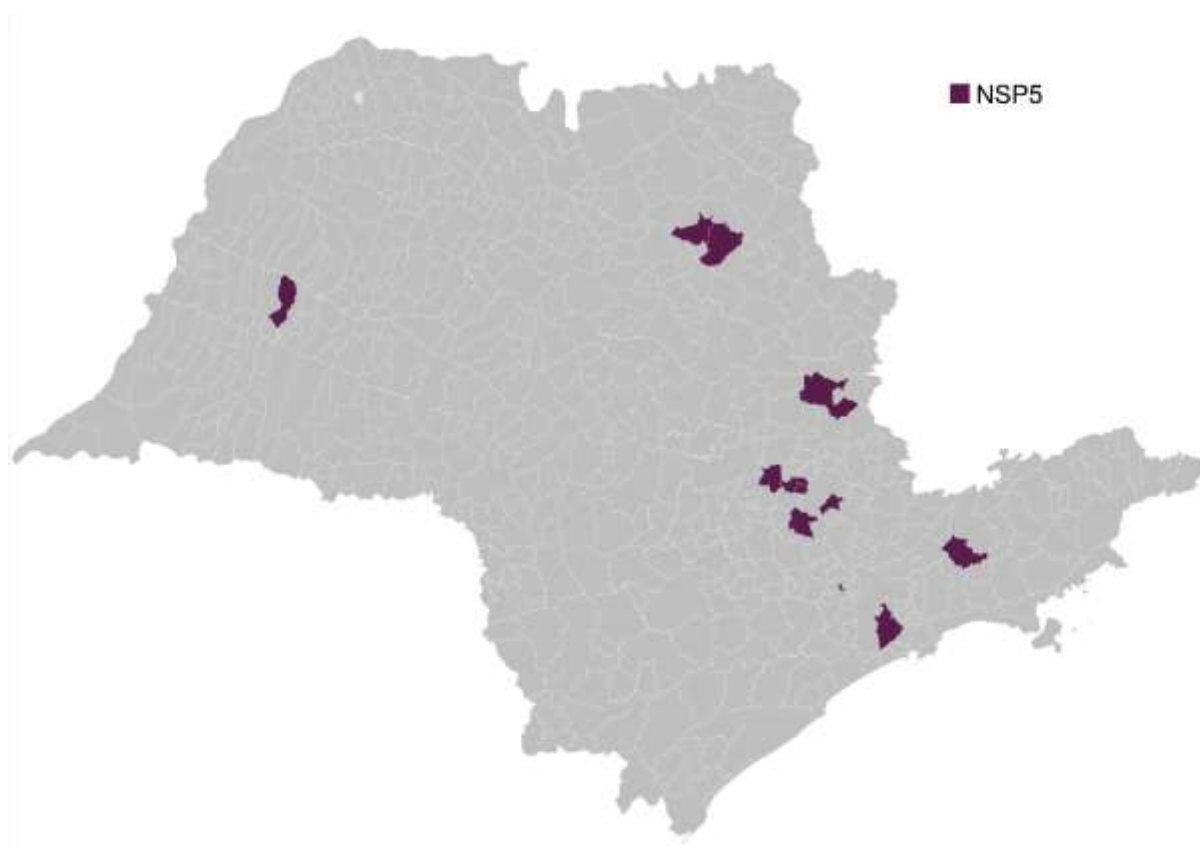
- Sendo 25% de fêmeas (3/12 -25%) e 75% (9/12) de machos, classificados como adultos e jovens em 91,7% (11/12) e 8,3% (1/12), respectivamente.

- Na Figura 7 é possível verificar a dispersão dos animais (putativamente) positivos para rotavírus no Estado de São Paulo - SP;

- Controles: NCDV, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;

- Apesar de todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5, não foi possível concretizar o sequenciamento genético (pelo método de Sanger) das amostras positivas.

Figura 7: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando a localidade dos espécimes de morcego positivos para a reação de PCR ao gene NSP5 do rotavírus A. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.



Fonte: Gravinatti (2022)

ii) Coronavirus

- Das 220 amostras testadas ao protocolo de PCR visando a detecção genérica do Coronavírus pelo gene em OR1b (item 3.3.3; Quadro 6), foi possível detectar 14,55% (32/220) amplificações com fragmentos de tamanho compatível ao esperado;

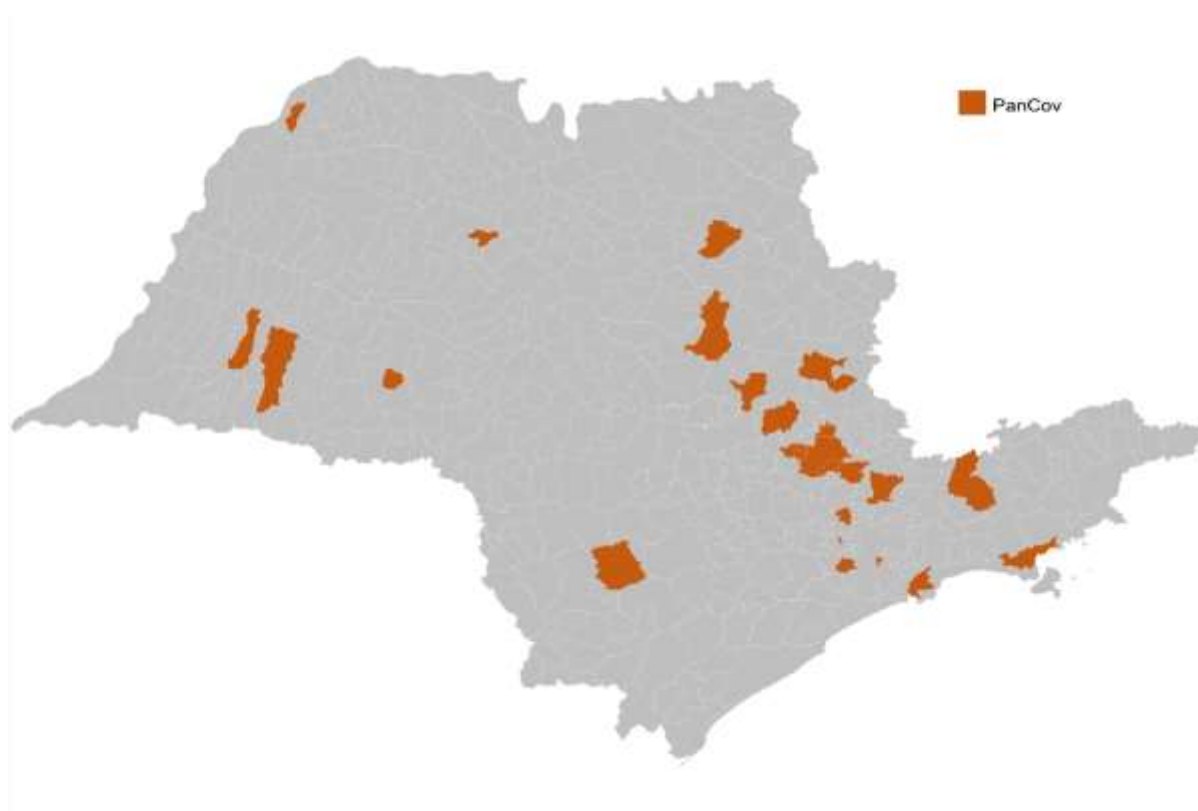
- As amostras positivas ao protocolo de PCR (ESCUTANAIRE *et al.*, 2007) foram submetidas a um novo protocolo de PCR para detecção do gene RdRp do

gênero *Betacoronavírus* (STEPHENSEN *et al.*, 1999) (item 3.3.3; Quadro 8), e todas resultaram negativas;

- Sendo 31,25% de fêmeas (10/32) e 56,25% (18/32) de machos, 12,5% dos animais não puderam ser identificados quanto ao sexo (4/32), além disso foram classificados como adultos e jovens em 90,6% (29/32) e 9,4% (3/32), respectivamente.

- Na Figura 8 é possível verificar a dispersão dos morcegos (putativamente) positivos para coronavírus no Estado de São Paulo - SP;

Figura 8: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando os municípios de origem dos espécimes de morcego putativamente positivos para coronavírus de acordo com amplificação gene ORF1b (ESQUITANAIRE *et al.*, 2007). A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.



Fonte: Gravinatti (2022)

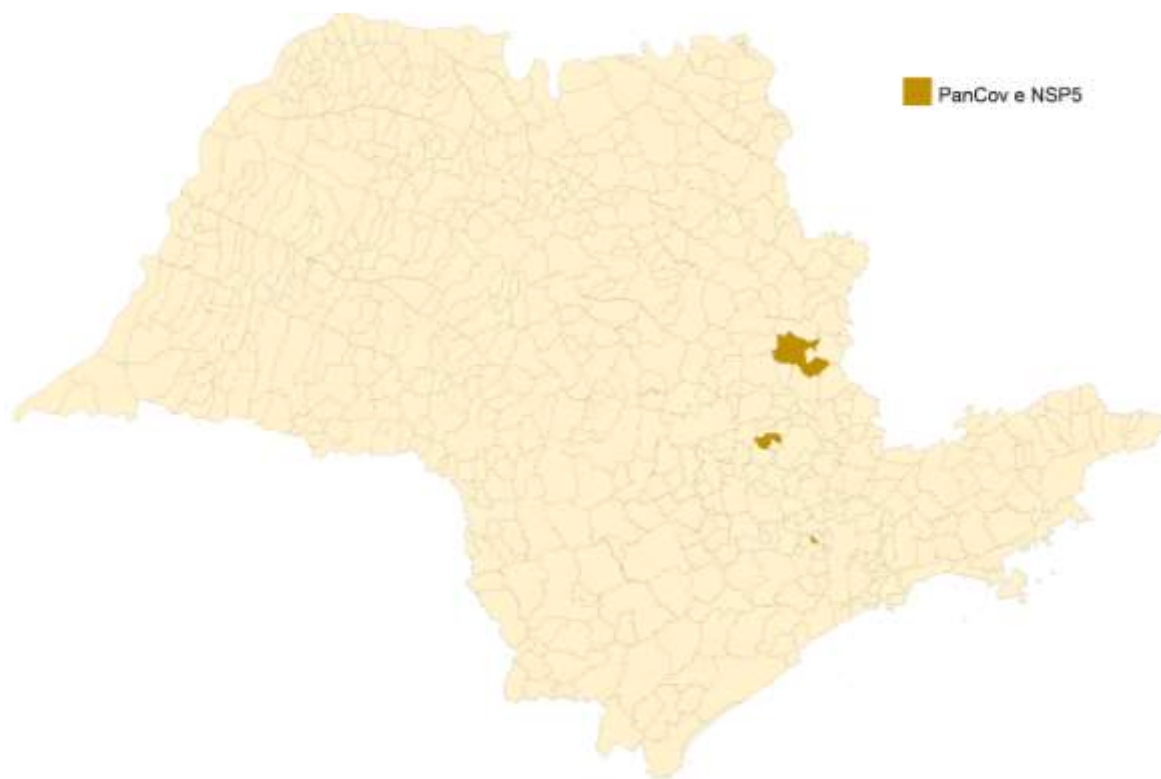
- Das 220 amostras testadas ao protocolo de nested-PCR preconizado por Chu *et al.* (2011) e por Woo *et al.* (2005) também visando uma detecção do Coronavírus pelo gene RdRp (item 3.3.3; Quadro 7), não foi possível amplificação das amostras;

- Controles: BCoV, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;

- Apesar de todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5, não foi possível concretizar o sequenciamento genético (pelo método de Sanger) das amostras positivas.

Houve aparente coinfeção (Coronavírus e Rotavírus) em três amostras testadas, apresentando as seguintes características: (a) *Glossophaga soricina* (fêmea, adulta); (b) *Cynomops abrasus* (macho, adulto); (c) *Cynomops sp.* (fêmea, jovem), coletadas nos municípios de Jandira, Mogi Guaçu e Sumaré, respectivamente (Figura 9).

Figura 9: Mapa ilustrativo do Estado de São Paulo/SP demonstrando os municípios de origem dos espécimes de morcego putativamente co-infectados para coronavírus e rotavírus. A listagem completa dos municípios amostrados consta no anexo 3.



Fonte: Gravinatti (2022)

No Quadro 12, descrito a seguir, traz-se a relação dos morcegos positivados em relação a espécie.

Quadro 12: Relação entre as espécies de morcegos acometidas pela infecção por coronavírus, rotavírus e coinfeção (coronavírus e rotavírus).

ESPÉCIE	CORONAVÍRUS	ROTAVÍRUS	COINFEÇÃO
<i>Platyrrhinus lineatus</i>	1 (3,1%)		
<i>Glossophaga soricina</i>	3 (9,3%)	2 (16,7%)	1 (33,3%)
<i>Artibeus sp.</i>	6 (18,8%)	1 (8,3%)	
<i>Cynomops sp.</i>	8 (25,0%)	4 (33,4%)	2 (66,7%)
<i>Molossus sp.</i>	6 (18,8%)	1 (8,3%)	
<i>Desmodus rotundus</i>	2 (6,3%)		
<i>Pygoderma bilabiatum</i>	1 (3,1%)		
<i>Eumops sp.</i>	1 (3,1%)	3 (25,0%)	
<i>Carollia sp.</i>	-	1 (8,3%)	
<i>Lonchophylla mordax</i>	1 (3,1%)		
<i>Lasiurus sp.</i>	1 (3,1%)		
<i>Myotis sp.</i>	2 (6,3%)		
TOTAL	32	12	3

iii) Hepatite E

- Das 220 amostras testadas a reação de nested-PCR com alvo de detecção um fragmento da ORF1 do vírus da hepatite E (item 3.3.4; Quadro 9), teve como resultado todas as amostras negativas;

- Controles: Amostra clínica positiva, β -actina e água (NTC) funcionaram de acordo com o esperado em todas as reações;

O resultado negativo das amostras permaneceu também após todos os procedimentos de reprodutibilidade descritos no item 3.5.

4. DISCUSSÃO

Nesta discussão, inicialmente abordaremos os resultados provenientes de amostras de roedores quanto aos respectivos vírus pesquisados. Analogamente com as de morcegos. Ao final faremos uma síntese dos resultados e perspectivas quanto ao estudo de vírus em animais sinantrópicos.

4.3. ROEDORES

Segundo a Portaria Municipal (São Paulo - SP) nº 09, de 16/11/2000 (SÃO PAULO, 2000), o controle de pragas é um sistema que busca realizar ações preventivas e corretivas para eliminação de animais sinantrópicos, vetores e pragas urbanas, visando diminuir o uso de praguicidas, com métodos favoráveis ao ponto de vista higiênico, ecológico e econômico. De acordo com dados do telefone 156 (canal de comunicação entre município e Prefeitura) a cidade de São Paulo registrou mais de 6.300 denúncias sobre infestações de ratos em 2020 (SÃO PAULO, 2020).

Estudo realizado com 1529 moradias de baixa renda na cidade de São Paulo (Brasil), constatou uma taxa de infestação por roedores sinantrópicos de 40,0% sendo reduzida a 14,4% após medidas de educação e controle de pragas (MASI *et al.*, 2009). Em Baltimore (EUA) aproximadamente 64,0% das pessoas já presenciaram roedores nas ruas, 6,0% dentro de suas casas e 2,0% já foram mordidos pelo animal (CHILD *et al.*, 1991).

As amostras de roedores cedidas para este trabalho seguem as indicações de desratização do manual de normas operacionais que rege os Centros de Controle de Zoonoses (BRASIL, 2017) no Brasil que traz a necessidade de inspeção do local infestado por esses roedores sinantrópicos, bem como a identificação das espécies que ali habitam (por meio das cíbalas – fezes), e uma ação combinada de medidas preventivas com educação em saúde (“antirratização”) com as medidas de controle (“desratização”) mantendo a infestação de roedores a níveis toleráveis.

O processo de desratização em redes de esgoto (locais úmidos) utiliza isca granulada ou com bloco impermeável (parafina) impregnados com anticoagulantes à base de hidroxycumarina e devem ser realizadas três aplicações sucessivas com intervalo de sete a dez dias. Sendo a visualização da isca uma medição da eficácia

do processo de desratização: (i) intocado - isca sem consumo; (ii) intocada - isca estragada; (iii) consumo parcial da isca; (iv) consumo total da isca (BRASIL, 2017).

Roedores são reconhecidos por serem reservatórios, amplificadores e hospedeiros de uma grande quantidade de enfermidades de importância a Saúde Pública, sendo as virais representativas do maior número, seguida pelas bacterianas e parasitárias. E os sinantrópicos, *Rattus norvegicus*, *R. rattus* e *Mus musculus*, são destaques para as doenças transmitidas por roedores. (BRASIL, 2002; MEERBURG, *et al.*, 2009; RABIEE *et al.*, 2018). Cabe ressaltar que estes roedores podem inclusive infestar hospitais, escolas, instituições de longa permanência, áreas de alimentação, estações de transporte público, e áreas e criações rurais, o que potencializa ainda mais a circulação de agentes infecciosos e parasitários.

As formas de transmissão também são variadas: forma direta - inclusive pela inalação de partículas em suspensão presentes nas suas fezes; ou indireta - mediante ou não a presença de vetores, ou por contaminação em alimentos; além disso, deve ser ponderada a prevalência regional dos roedores, modulada por aspectos ambientais, comportamentais e fisiológicos, pois muitos agentes estão estritamente relacionados a roedores específicos (RABIEE *et al.* 2018).

Em investigações envolvendo taxa de infestação de roedores em construções (domiciliares e industriais) em localidades da cidade de São Paulo é possível verificar uma alta taxa (40%) dos três roedores sinantrópicos (em presença única ou múltipla) na zona sul (MASI *et al.*, 2009), e de 10% na zona leste, com predominância da ratazana (SILVA *et al.*, 1992). Sendo determinada por estudos matemáticos a taxa geral (23,1%) de infestação de todas as espécies para a cidade de São Paulo, no qual *Rattus rattus* corresponde a 12,7% seguida pelo *Rattus norvegicus* (9,4%) e o *Mus musculus* (1,7%) (MASI *et al.*, 2010).

O fato de roedores sinantrópicos serem ativos a noite e necessitarem explorar os locais realizando saltos, escaladas e o ato de correr, favorece assim a dispersão dos agentes infecciosos por grandes localidades sem a percepção humana (MASI *et al.*, 2009).

Para esta pesquisa, partiu-se para o diagnóstico de quatro gêneros virais a partir de amostras fecais fornecidas pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica do Município de São Paulo. Optou-se pelo envio de fezes por questões operacionais deste Núcleo, já que na maioria das vezes os animais mortos não estão na proximidade de onde se localizam as iscas. Estas amostras (fezes)

ficaram no ambiente por tempo indeterminado, sem nenhum tipo de controle sobre os impactos ambientais que estavam submetidos (umidade, temperatura, incidência solar), e foram coletadas em diferentes locais - externos (ruas, praças, parques) e internos (domicílios e órgãos públicos).

Esses fatores ambientais podem eventualmente ter influenciado na viabilidade de detecção dos agentes virais aqui estudados, acrescido da desidratação natural que as fezes de roedores apresentam. Após a colheita das amostras, elas eram mantidas congeladas até o momento do seu processamento diminuindo as chances de degradação viral.

Pela baixa quantidade de células de descamação nas fezes de roedores, foi necessária a utilização de controle exógeno nas amostras (acréscimo de células MDBK), e neste caso, as amostras apresentaram positividade a reação de controle da PCR (β -actina), minimizando a hipótese de que nas amostras houvessem inibidores inespecíficos que pudessem impedir de ocorrer à amplificação.

i) Rotavírus A

Quanto aos rotavírus, eles podem ser transmitidos de forma direta ou indireta, pela água contaminada (e conseqüentemente alimentos), os quais são considerados importantes fômites dessa transmissão. Apesar de ser uma enfermidade relacionada a falta de estrutura básica de saneamento e infraestrutura, pode até atingir os demais grupos socioeconômicos de países industrializados ou em desenvolvimento (KRAAY *et al.*, 2018).

Estima-se que um indivíduo acometido, mesmo que assintomático, seja capaz de liberar 10^{10} - 10^{11} partículas virais por grama de fezes por até duas semanas (KESWICK *et al.*, 1983; ROMERO *et al.*, 2011). Sendo comumente responsável por transtornos nos meses de inverno em regiões temperadas e em regiões tropicais, pode ocorrer a qualquer época do ano, devido a suas características de ser resistente em temperatura de até 40°C por até uma hora, manter-se intacto entre os pH 3-10, e dose infectividade tão mínima quanto uma unidade de célula (meio de cultura celular) até altas doses relatadas (ROMERO *et al.*, 2011).

Vale ressaltar que esse vírus pode ser resistente aos tratamentos de água e esgoto, e que roedores, principalmente *Rattus norvegicus* e *Rattus rattus* facilmente

se adaptam e sobrevivem nesses ambientes promíscuos, atuando como vetores de diferentes doenças (OTENIO *et al.*, 2010). Além disso, se conceito dos 5'As for aplicado neste cenário devemos acrescentar ainda duas importantes interações: o impacto da doença nos próprios roedores e as relações de predação que existam nesse ambiente urbano (e de esgoto) que precisam ser melhor entendidas, pois também são reguladores da reinfestação destes ambientes (OTENIO *et al.*, 2010).

Apesar dessa resistência ambiental, uma das nossas hipóteses para a negatividade na reação de PCR seria a degradação das partículas virais desde a defecação pelo animal até o momento da colheita e/ou diagnóstico, seja pela compactação e/ou desidratação das cíbalas que poderia comprometer a viabilidade da amostra fecal disponível no ambiente. Além disso, segundo a Prefeitura Municipal de São Paulo, entre os anos de 2018 e 2019, foram registrados 30 casos humanos de rotavírus (por 100 mil habitantes) sem nenhuma mortalidade no período (BRASIL, 2022), em que pese que talvez esses dados possam estar subestimados.

O modelo murino é altamente utilizado em estudos experimentais de rotavírus, trazendo assim possíveis explicações para os resultados encontrados. De um modo geral, a patologia do rotavírus em roedores é semelhante ao que acontece em outras espécies (cordeiros, bezerros e suínos). Após 24 horas da infecção, os enterócitos murinos apresentam-se edemaciados e com a presença de vacúolos (indicativo de ação viral), concentrando as lesões no intestino delgado superior - resposta dependente da dose causando quadros diarreicos no animal (LUNDGREN *et al.*, 2001).

Vale ressaltar que pelas fezes não é possível determinar a idade do animal, e isso também pode impactar na interação entre exposição e infectividade nos roedores. Em camundongos experimentais foi possível perceber que a diarreia pode sim estar relacionada a idade do animal, aqueles que apresentavam 15 dias de vida ou mais, o rotavírus não era capaz de causar diarreia nessa espécie, e devido ao fato da enterotoxina do vírus aumentar a concentração celular de cálcio, fazendo com que as cíbalas (as fezes do roedor) sejam ainda mais compactadas (LUNDGREN *et al.*, 2001).

A região-alvo para a detecção por PCR dos rotavírus do grupo A, utilizando o gene codificador da NSP5, foi intencional pois, dada a sua alta variabilidade, optou-se por um gene de maior conservação, cuja detecção em roedores já tinha sido realizada por Tonietti *et al.* (2013), quando na ocasião detectaram rotavírus em suínos

e ratos, apresentando uma identidade de 98% entre si, sugerindo uma circulação comum do vírus entre estes animais, uma vez que coabitavam o mesmo espaço de criação animal e a colheita foi realizada num mesmo momento. Em trabalho semelhante de circulação interespecies é possível observar que o mesmo agrupamento no genótipo H1 (descritos em porcos) também fora relatado em seres humanos (MARTELLA *et al.*, 2010).

Também se identifica semelhança genotípica entre rotavírus humanos e de novas cepas virais de roedores, a partir de amostras de paciente humano positivo para RVA com íntima relação a roedores da mesma região, sendo sugestivo da transmissão interespecies na China (LI *et al.*, 2016)

Ainda que existam poucos relatos de detecção de rotavírus em roedores sinantrópicos, é possível observar que a quantidade de amostras utilizadas nestes trabalhos é menor do que as apresentadas nesta tese. Entretanto, apesar dos esforços, nenhuma das amostras foi possível a caracterização de uma constelação (nem mesmo parcial) pelo método de sequenciamento tipo Sanger, diferentemente dos trabalhos apresentados por (LI *et al.*, 2016; TONIETTI *et al.*, 2013). Em contrapartida, em muitos deles a técnica de detecção utilizada foi o sequenciamento de nova geração (NGS), uma ferramenta muito mais precisa, porém ainda inviável para muitos estudos (SACHSENROEDER *et al.*, 2014; IANIRO *et al.*, 2017; ISLAM *et al.*, 2022; NIENDORF *et al.*, 2020).

Apesar dos rotavírus grupo A terem sua classificação baseada na proteína estrutural VP6 (Ix), e usar as proteínas VP7 (Gx) e VP4 (Px) como formas habituais de representação, são regiões genômicas de alta variabilidade. Por exemplo, a codificação G possui 41 apresentações enquanto que P conta com 57, logo essas regiões não são priorizadas como forma de detecção e/ou triagem, principalmente para animais e/ou amostras tão incertas como as de roedores sinantrópicos.

A diversidade de rotavírus também já foi descrita em roedores, em estudo chinês foi possível a identificação de onze árvores diferentes para esta estirpe viral em roedores e musaranhos com proximidade significativa a vírus que acomete seres humanos (AU-1), cães e gatos (AU-1-*like*), e a estirpes de morcegos (LI *et al.*, 2016).

Diferentes autores utilizam a região de detecção da proteína não estrutural (NSP5) para realização de um painel de triagem para rotavírus A (LI *et al.*, 2016; TONIETTI *et al.*, 2013), pois esta proteína além de demonstrar ser uma região conservada do genoma viral, se faz presente desde ao início da infecção celular,

passível de detecção do viroplasma após 5 horas de infecção e com ele a NSP5 (BEROIS *et al.*, 2003), além de desenvolver um papel multifuncional na vida do rotavírus (BUTTAFUOCO *et al.*, 2020).

Para esta tese optou-se pela utilização desse gene conservado para a investigação inicial ao rotavírus do grupo A. Devido a impossibilidade do sequenciamento genético pelo método de Sanger, optou-se pela não realização de novos alvos de detecção gênica.

ii) Rotavírus B

Diferentemente da capacidade do RVA em eliminar grande quantidade de partículas virais nas fezes em infecção, o mesmo parece não ocorrer em infecções por RVB, no qual possui quantidades extremamente menores, dificultando ainda mais a sensibilidade analítica e diagnóstica (CHANG *et al.*, 1997). Embora vários segmentos de RVB originários de diferentes espécies hospedeiras tenham sido investigados, um único genoma de suíno, um de rato e alguns genomas completos de RVB humanos foram relatados até o momento (CHANG *et al.*, 1997; CHINSANGARAM *et al.*, 1995), sendo um importante agente viral para futuras detecções, inclusive para outras espécies animais.

Ao analisar a prevalência de rotavírus B (RVB) em roedores é possível verificar que estudos sorológicos e moleculares comprovam a circulação desta estirpe viral entre roedores sinantrópicos (BOEY *et al.*, 2019; EIDEN *et al.*, 1992). Para humanos, é possível se detectar a presença de anticorpos para rotavírus do grupo B mesmo sem a detecção do próprio vírus (SEN *et al.*, 2001).

Países como Índia e China, que possuem surtos recorrentes de RVB entre humanos, destacam que estes acontecem principalmente em adolescentes e adultos, sugerindo que crianças podem ser menos expostas ao vírus (JOSHI *et al.*, 2019). E ainda demonstram que medidas preventivas, como cloração da água e práticas de higiene eliminam o RNA do RV em amostras de água analisadas.

Em um trabalho realizado por Lindsay *et al.* (1993) foi desenvolvida uma proteína recombinante específica para o diagnóstico de RVB, assim visando auxiliar a detecção e um esclarecimento de sua epidemiologia, e apesar de relatarem uma

alta incidência de casos com quadro diarreico em regiões da China, também discutem a dificuldade de diagnóstico sorológico e de confirmação do RVB.

Em estudo comparativo da linhagem RVB PB-93-I5 de porcos com a estirpe humana, bovina e de rato pode-se verificar uma baixa identidade de aminoácidos entre a de porcos e a humana, porém ao confrontar a linhagem humana com a de ratos, há uma correspondência de 50,7% até 100% com o gene analisado (SUZUKI *et al.*, 2012), confirmando a importância da investigação e do entendimento dessa enfermidade e seu comportamento, tendo ratos sinantrópicos como reservatórios.

Em experimentos de infecção em roedores neonatos (8 dias) foi possível verificar que após 24-36 horas da infecção por RVB houve perda de peso dos animais acompanhada de diarreia autolimitante. Após sete dias os animais já estavam com peso corporal semelhante aos não infectados. De acordo com esses autores o RVB pode ser recuperado nas fezes de 24-72 horas e em 96-168 horas há um retorno e melhora das vilosidades intestinais do roedor. Essas informações são de extrema importância para um melhor entendimento da epidemiologia, patogênese da infecção (inclusive para seres humanos), bem como para o sistema de vigilância de enfermidades negligenciadas como o RVB (SALIM *et al.*, 1995), bem como uma justificativa aos nossos resultados negativos para essa estirpe viral.

No presente trabalho as amostras de *Rattus norvegicus* foram mais frequentes quando comparadas a outras espécies sinantrópicas, sendo este achado considerado o esperado para cenários urbanos como a cidade de São Paulo. A escolha dos primers para a detecção do rotavírus do grupo B foi estabelecida após pesquisas *in silico* baseadas nas sequências genéticas disponíveis nos bancos de dados internacionais, mas também utilizou como base o trabalho desenvolvido por Sachsenröder *et al.* (2014) com roedores sinantrópicos urbanos da Alemanha. Estes mesmos autores, a partir de fragmentos do gene VP1, detectaram seis sequências de RVB em ratazanas (*Rattus norvegicus*) muito semelhantes a vírus encontrados em seres humanos (SACHSENROEDER *et al.*, 2014).

Acrescidos da impossibilidade de utilização de um controle positivo para a reação de rotavírus do grupo B, aqui optamos por acrescentar mais um gene de detecção por PCR, visando minimizar as chances de um falso negativo, tendo sido eleito o fragmento de gene codificador da VP6, que também apresenta similaridades a estirpes virais frequentemente encontradas em roedores.

iii) Coronavírus

Embora o coronavírus murino (ou vírus da hepatite murina M-CoV) seja a espécie mais frequentemente encontrada em roedores, desde a sua descoberta em 1947, ela serve com modelo de estudo para o entendimento *in vitro* da dinâmica de ação do coronavírus em seres humanos. Monastiri *et al.* (2021) capturaram roedores sinantrópicos (*Rattus rattus*, *R. norvegicus* e *Mus musculus*) de ambientes urbanos e domésticos, obtendo 11 sequências todas de *Mus musculus*, principal espécie encontrada em ambientes residenciais. No presente trabalho, não foi registrado nenhum exemplar deste roedor, talvez pelo fato da coleta ter sido em locais urbanos, porém, peridomésticos, como ruas, praças e vicinais e não no interior das residências.

No sul da China, em uma pesquisa envolvendo 297 roedores sinantrópicos de áreas urbanas e rurais, foi possível observar três genomas diferentes em *Rattus norvegicus*, sendo eles: um *Alphacoronavirus*, um *Betacoronavirus* e um híbrido, uma recombinação entre o vírus da hepatite murina e um coronavírus de rato (*Longquan RI*). Os mesmos autores ainda discutem a importância da abordagem em Saúde Única e a necessidade de se levantar mais informações sobre uma possível transmissão interespecies (LI *et al.*, 2021).

Na Suécia, apesar do roedor silvestre *Myodes glareolus* ser um sabidamente reservatório de um hantavírus (*Puumala - Orthohantavirus*), foi descrito carregando também um novo coronavírus, e para isso, mais uma vez foram utilizadas novas técnicas de sequenciamento (NGS) pois, apesar de terem utilizado métodos convencionais de detecção molecular por PCR para pancoronavirus (TONG *et al.*, 2009), ela não foi capaz de detectar positividade nas amostras para este agente (WASBERG *et al.*, 2022), indo de encontro aos resultados deste trabalho, sendo um ponto importante de discussão para o futuro dos sistemas de vigilância de doenças importantes frente a reservatórios negligenciados.

Saúde Única também é muito discutida por pesquisadores do Estado da Bahia (Brasil), que por mais de duas décadas investigam a interação entre uma comunidade de baixa renda e a presença de ratos, sob um sistema ambiental (e de saneamento) precárias, demonstrando a necessidade desse olhar mais aberto para as dinâmicas entre agente infeccioso, reservatório e hospedeiro (CORNWALL, 2016; PANTI-MAY *et al.*, 2016).

Em estudo recente, foi possível determinar que roedores seguidos dos morcegos são os reservatórios com maior competência vetorial para transmitir vírus zoonóticos, levando em consideração a sobreposição geográfica e a quantidade de ninhadas/ano; demonstrando também a maior frequência de mesclas entre mais de um tipo viral em espécies de morcegos do que de roedores (JOHNSON *et al.*, 2020).

Vale ressaltar a importância dos coronavírus com riscos de pandemia (tipo SARS e o MERS) no qual tem o modelo murino utilizado para estudo *in vivo* desses vírus (β -CoV, linhagem C), e por mais que garantam uma boa fonte de anticorpos para estudos sorológicos, eles não são suscetíveis a essas estirpes por não expressarem o receptor dipeptidil-peptidase 4 (DPP4) que confere o tropismo de espécies hospedeiras ao vírus (de WIT *et al.*, 2013; COLEMAN *et al.*, 2014; IWATA-YOSHIKAWA *et al.*, 2016). Porém descobertas de novos coronavírus do tipo α -CoVs e β -CoVs (linhagem A) em roedores (sinantrópicos e silvestres) sugerem que eles podem transportar diferentes e desconhecidas estirpes virais, além de serem responsáveis por transmissão entre espécies de roedores e outras, inclusive o homem (GE *et al.*, 2017; TSOLERIDIS *et al.*, 2019).

Fato é que até o presente momento não foi isolado o vírus do SARS-CoV-2 de roedores sinantrópicos, sendo apenas registrada soro-reatividade, um achado que evidencia a necessidade de uma vigilância constante e intensa nesse grupo de animais (MIOT *et al.*, 2022).

O trabalho aqui apresentado tinha o intuito a pesquisa deste agente viral mesmo antes do contexto pandêmico do coronavírus, em 2018, e para isso, buscou-se investigar uma área do genoma que pudesse contemplar uma maior quantidade de espécies - entre os quatro gêneros do coronavírus.

Optou-se pela detecção genérica com o primer descrito por Escutenaire *et al.* (2007) pois tem como alvo a ORF1b que codifica a RdRp (alta conservação nos coronavírus). Roedores são considerados hospedeiros ancestrais para dois coronavírus de importância à Saúde Pública do gênero *Betacoronavirus* (HCoV-OC43, HCoV-HKU1), também já foram descritos portando alguns *Alphacoronavirus* (TSOLERIDIS *et al.*, 2016; TSOLERIDIS *et al.*, 2019).

O manejo de amostras virais solicitam que amostras de RNA devem ser manejadas de forma especial visando a eficiência na recuperação viral após extração devendo seguir as seguintes recomendações: a) congelamento imediato das amostras após a morte dos animais; b) utilização de RNA*later* e armazenamento em

temperatura de -80°C imediatamente após a coleta; c) manipulação sempre em gelo; d) evitar ciclos de congelamento e descongelamento da amostra para evitar sua degradação (TSOLERIDIS; BALL, 2020).

As amostras utilizadas neste trabalho sofreram influências ambientais desconhecidas de temperatura, tempo e umidade, e que podem, de alguma forma, ter impactado na capacidade de detecção desses agentes virais.

Vale ressaltar também que esses resultados negativos para a detecção de corona, tiveram seus respectivos controles exógenos (alvo) β -actina atuando de acordo com o esperado, indicando em alguma extensão que podem ser - de fato - roedores sinantrópicos negativos para coronavírus (de todos os gêneros), evidenciando a importância do sistema de vigilância constante.

iv) Hantavírus

O processo de antropização está intimamente relacionado ao risco de transmissão do hantavírus, pois a entrada aos habitats dos roedores, seja pelo desmatamento e/ou agricultura favorece que eles possam servir como reservatórios destes vírus (OLIVEIRA, *et al.*, 2014). Estudos demonstram a necessidade de vigilâncias extensas de roedores para avaliar o risco e conseguir melhor entender o potencial de transmissão ao homem desta enfermidade; tanto que em uma recente investigação na ilha de Mayotte (Oceano Índico), aproximadamente 18% dos *R. rattus* investigados foram positivos para Mayotte vírus, do complexo da Síndrome da Febre Hemorrágica e Renal (Velho Mundo) (FILIPPONE *et al.*, 2016).

Por mais que tenham sido relatados casos positivos em humanos na Península da Malásia, na década de 80, constata-se que ainda faltam informações sobre a infecção em espécies de roedores, principalmente sinantrópicos; propondo que estudos de detecção molecular com a investigação do perfil sorológico dos ratos são necessários para avaliação do risco de infecção (HAMDAN *et al.*, 2017).

Sabe-se que a ratazana (*Rattus norvegicus*), encontrada dispersa em quase todos os continentes, é o principal reservatório do vírus Seoul (grupo de hantavíroses do Velho Mundo) (LEE *et al.*, 1982; CLEMENT *et al.*, 2019a; CLEMENT *et al.*, 2019b), mas também já foi descrito nos demais roedores sinantrópicos: *Rattus rattus*, (WANG *et al.* 2000) e *Mus musculus* (JIANG *et al.*, 2017). A cada ano, aproximadamente

150.000 pessoas são mundialmente hospitalizadas em decorrência da HFRS (BI *et al.*, 2008).

Os demais agentes virais responsáveis pelo complexo da Síndrome da Febre Hemorrágica e Renal (*Hantaan*, *Dobrava*, *Puumala*) são transmitidos majoritariamente por roedores silvestres dos gêneros *Apodemus sp.* e *Myodes sp.* tendo como uma das principais características a regionalização dos casos, estando fortemente associados a ambientes rurais (plantação de grãos) da Eurásia (China, Coreia do Norte, Rússia e norte da Europa) (JONSSON *et al.*, 2010).

Ambas as síndromes (Velho e do Novo Mundo) apresentam ciclos de vida semelhantes: são transmitidas em decorrência de aerossóis em suspensão originados de suas salivas e excretas (fezes e urina), portanto sua prevalência está associada a presença de seus reservatórios e ao risco de exposição ocupacionais (LEE, 1989). Estas espécies de reservatórios são capazes de carregar e excretar o vírus por longos períodos, sendo possível detectar por: i) 7 a 12 dias pelo sangue; ii) 9 a 40 dias pela saliva; iii) 9 a 360 pela urina; iv) 12 a 40 dias nas fezes; v) 12 a 180 dias no pulmão; vi) 15 a 18 dias nos rins; vii) 12 a 40 dias no fígado (CAIMING *et al.*, 2010; BAI *et al.*, 2013).

Espécies do Velho Mundo, como o *Hantaan* vírus, tiveram a transmissão vertical relata e também pelo leite materno; diferentemente das espécies do complexo do Novo Mundo, por exemplo o *Sin Nombre* vírus (PAI *et al.*, 1999).

Algumas alterações em evolução e/ou interações vírus - hospedeiro impactaram nas formas de apresentação das hantaviroses, principalmente devido: a) a presença e distribuição do vírus e/ou na localidade; b) eventos climáticos, principalmente relacionados a precipitação; c) a capacidade de *spillover* ou de interação interespecies; d) a evolução viral (JONSSON *et al.*, 2010). Essa última deve ser analisada com cautela, pois Ramsden *et al.* (2008, 2009) relatam que hantavírus demonstram taxas de evolução de curto prazo (10^{-3} - 10^{-4}).

Já para a América Latina, incluindo Brasil, as hantaviroses estão principalmente associadas às espécies do complexo do Novo Mundo, apresentando uma Síndrome Cardiopulmonar (HCPS) tendo os roedores silvestres *Oligoryzomys nigripes* (pelo *Juquitiba* vírus) e *Necromys lasiurus* (Araraquara - vírus) como principais reservatórios (FIGUEIREDO *et al.*, 2003).

Entre os anos de 2007-2015, mais de mil casos foram notificados como casos confirmados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) do

Ministério da Saúde (Brasil), tendo febre, dispneia e insuficiência respiratória como principais sintomas descritos em seres humanos e evolução para óbito em e 3,1% dos casos (FONSECA *et al.*, 2018). Em assentamentos rurais em Goiás (Brasil) foi realizado um levantamento sorológico (anti-*Orthohantavirus*) entre os moradores e observaram positividade para o agente, porém sem diferença de frequência entre homens e mulheres (FERNANDES *et al.*, 2019), dada as condições de risco para ambos os gêneros (OLSSON *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2013).

A medida de controle mais eficaz para as hantavirose é a redução a exposição humana-roedor e conseqüentemente seus excrementos. Para isso, recomenda-se a utilização de telas e redes de proteção a entrada dos roedores em casas e edificações e granjas de animais de produção, minimizar a quantidade de alimentos disponível no ambiente, captura e descarte cuidadoso de possíveis roedores (mortos ou não), umidificar ambientes antes de proceder com a limpeza (por varrição) evitando a dispersão de aerossóis, proceder com medidas de desratização (química) quando detectado a infestação do local (BAI ; HUANG., 2002).

Vale destacar que o manejo do hantavírus, devido a sua patogenicidade, deve ser realizado em concordância a medidas de biossegurança compatíveis (JONSSON *et al.*, 2010).

iv) Hepatite E

O potencial zoonótico da hepatite E ainda é pouco estudado. Sabe-se que a hepatite E é considerada hiperendêmica em partes da Ásia, África e América Central. No Brasil a taxa de prevalência está em torno de 6,0% para a população humana (KAMAR 2017; TENGAN *et al.*, 2019).

Apesar do presente estudo não ter apresentado nenhum resultado positivo para esse agente viral, mais pesquisas com os possíveis reservatórios se fazem necessárias, dada as descrições obtidas em diferentes localidades.

O HEV já foi isolado em amostras de suínos no Estado de São Paulo (PAIVA *et al.*, 2007), e detectado em porcos no Paraná (PASSOS-CASTILHO ; GRANATO, 2017), filogeneticamente próximo ao vírus hepatite E - B3. Até o momento sabe-se que a circulação sorológica de IgG anti-HEV está em torno de 0,8 - 88,9% no rebanho suíno brasileiro (MORAES *et al.*, 2021).

A informação sobre as granjas de suínos positivas para HEV é importante quando se analisa o cenário global, contando com a presença de roedores infestando mesmo ambiente. Além disso a somatória do convívio em alta concentração e rápida proliferação facilita que o modelo murino seja de interesse ao entendimento da dinâmica do HEV, servindo também como reservatórios e dispersores do vírus (MEESTER *et al.*, 2021). Vale lembrar que não só roedores sinantrópicos circundam as criações de animais, os silvestres também devem ser alvos de investigação, uma vez que Souza *et al.* (2018) já descreveram duas novas estirpes virais de HEV em *Calomys tener* e *Necromys asiurus*.

Takahashi *et al.* (2022) realizaram uma investigação em roedores sinantrópicos (*Rattus norvegicus* e *Rattus rattus*) no qual 1,2% (5/428) apresentaram sorologia anti-HEV, sendo que destes nenhum foi possível a detecção molecular para HEV-C. E nesse mesmo estudo foi possível detectar outra estirpe viral, o HEV-B3, em 19,8% (20/101) de fezes de roedores coletadas em uma granja de suínos, com identidade entre 97,3-99,5% aos HEV-B3 encontrado nos porcos.

Os resultados negativos desse trabalho podem ser explicados pelo período de incubação variável do vírus, que, em surto varia de 2 a 10 semanas, porém dentro de um cenário não epidêmico, não há informações sobre essa dinâmica (VISWANATHAN, 1957). A não detecção do vírus nas fezes dos roedores, também pode ser justificado pela rápida degradação que o RNA pode ter sofrido nessas amostras, mesmo problema encontrado por Takahashi *et al.* (2022). Diferentemente de suínos, que é possível encontrar o vírus infeccioso no esterco, sendo de grande importância o correto manejo desse material (KANAI *et al.*, 2012).

Em uma infecção experimental de roedores com o vírus HEV suíno, os animais vacinados via intraperitoneal, foi possível a detecção viral nas fezes no intervalo de 7 -14 dias e de 35 - 49 dias após a infecção (JIAN *et al.*, 2022). Nesse mesmo modelo experimental, os animais vacinados passaram a demonstrar atividade de IgG anti-HEV aos 35 dias após infecção.

A escolha do primer utilizado para este trabalho foi confirmada a eficiência de detecção por meio da análise *in silico* comparando com sequências de roedores disponíveis no Genbank (*online*), além de demonstrar que é capaz de detectar os quatro grupos (A-D) a partir da ORF1 (WANG *et al.*, 1999; Quadro 9).

Neste trabalho, não foi possível a detecção de amostras positivas para roedores sinantrópicos urbanos (item 4.1; iii), apesar de todas as técnicas de

reprodutibilidade utilizadas (item 3.5) e de todos os controles funcionarem de acordo com o esperado. Mas como bem demonstrado pela literatura são importantes reservatórios para os vírus da hepatite E. Portanto, sugere-se que esta busca e vigilância seja estabelecida também em roedores de ambientes rurais, próximos a granjas de animais (especialmente suínos).

4.4. MORCEGOS

De acordo com a Norma Técnica nº 19 (2012) (BRASIL, 2012), cujo objetivo é trazer as diretrizes da vigilância em saúde frente casos de raiva urbana causada por morcegos, recomenda-se que como prevenção e controle devem ser adotadas as medidas de educação, comunicação e de informação da população, promovendo capacitação aos agentes de vigilância em saúde, além de capacitar os técnicos laboratoriais para a realização de um diagnóstico de identificação de morcegos.

Morcegos são considerados os únicos mamíferos capazes de voar, e com isso, necessitam de uma adaptação metabólica que podem ter impactado em sua capacidade de regulação inflamatória, e isso ao longo de sua evolução tenha impulsionado a presença de patógenos, principalmente vírus (GORBUNOVA *et al.*, 2020). Os mesmos autores ainda sugerem que essa ativação, ou melhor, superativação da resposta inflamatória esteja relacionada à presença de doenças em morcegos com idade avançada, vindo de encontro com os achados deste trabalho, cuja a maior detecção foi encontrada em animais considerados adultos.

i) Rotavírus

Sabe-se que os RVA não são patogênicos aos morcegos, e que existe uma dificuldade na capacidade de genotipar os rotavírus nesta espécie, principalmente se estiverem com uma carga viral relativamente baixa, ou apenas eliminarem RVA nas fezes em níveis baixos (ISLAM *et al.*, 2020a).

Dentro da literatura consultada, é possível verificar o uso de outras metodologias para a detecção genérica de rotavírus com o uso de outros primers (ITURRIZA-GOMARA *et al.*, 1999; WINIARCZYK ; GRADZKI, 2002), porém manteve-

se a estratégia do gene NSP5 devido a sua parte conservada e por relatos prévios para a população de morcegos do Estado de São Paulo - SP, no qual foi possível detectar e realizar constelações parciais nas espécies: *Glossophaga soricina* e *Molossus molossus* (ASANO *et al.*, 2016).

Alguns autores também relatam dificuldades em amplificação de segmentos genômicos de rotavírus em morcegos na América Latina, sendo ponderado que possa haver pontos de mutações nas regiões de ligação como os primers e também devido à baixa carga viral presente nas amostras (PARRA *et al.*, 2008; SOLBERG *et al.*, 2009), pontuando que técnicas de sequenciamento do genoma completo devem ser estabelecidas para uma melhor e mais completa classificação viral.

No ano de 2020, Islam *et al.* (2020a,b) utilizando técnicas de sequenciamento de nova geração (NGS) encontraram rotavírus A em morcegos de Bangladesh (dos gêneros *Pteropus*, *Rousettus* e *Taphozous*) com cepas altamente relacionadas a humanos, sugerindo uma zoonose. Também utilizando a técnica de NGS, 30 morcegos insetívoros provenientes da província de Yunnan (China) resultaram em 26 sequências ao grupo RVA (XIA *et al.*, 2013).

A importância e a necessidade da investigação e vigilância destes agentes virais em animais sinantrópicos vão de encontro aos resultados de Bourdett-Stanziola *et al.* (2021), detectaram alta identidade (97%) entre um morcego na Bulgária no ano de 2008 com aquelas provenientes de três crianças hospitalizadas com gastroenterite por rotavírus na República Dominicana no ano de 2007.

Os primers aqui utilizados já foram comparados *in silico* com amostras do Genbank, sendo os mesmos utilizados por Asano *et al.* (2016), na detecção de morcego. Como já discutido no item 5.1. (i) desta discussão, tem como alvo regiões de elevada conservação entre os diferentes genótipos virais.

ii) Coronavírus

Ao se realizar uma pesquisa simples em bancos de dados (Pubmed) com palavras chave “*coronavírus*” e “*bat*” (morcegos), apresentam-se mais de 17 mil artigos relacionados ao tema, e o que a torna mais interessante, é o fato de que aproximadamente 16 mil desses artigos são datados dos últimos cinco anos,

demonstrando o quão importante se faz a vigilância e a necessidade em se falar sobre o tema.

Em meio uma emergência global causada por um novo coronavírus (SARS-CoV-2) - de origem em morcegos, a importância em se pesquisar possíveis reservatório de outras estirpes é se faz necessário. Apesar de não ser possível sequenciar as amostras (nem mesmo com os procedimentos de reprodutibilidade - item 3.5) a presença de 14,5% (32/220) de positividade em segmento gênico de ORF1b de Coronavírus (item 3.3.3, quadro 6) nos permite aventar ao menos quatro hipóteses: (a) existe a possível circulação viral do coronavírus em morcegos em algumas regiões do Estado de São Paulo, devendo servir de alerta ao sistema de vigilância em saúde; (b) as amostras que apresentaram aos géis de agarose, amplicons de tamanho semelhante ao controle positivo poderiam ser ampliações inespecíficas, visto que o fragmento gerado é relativamente pequeno (113 pb); (c) todas, ou parte das amostras serem negativas; (d) poderia ser um coronavírus de outro gênero, e que por isso não foi possível de detecção quando submetidas à amplificação do fragmento do *Betacoronavírus* (item 3.3.3; quadro 8).

Vale lembrar que os morcegos são considerados a linhagem ancestral de dois *Alphacoronavirus* (HCoV-229E, HCoV-BL63) e três *Betacoronavirus* de interesse a saúde humana (SARS-CoV; MERS-CoV e o novo SARS-CoV-2), além de serem detectados em 14 famílias de quirópteros em pelo menos 69 países (RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022).

Na Costa Rica, durante a investigação de morcegos neotropicais foi possível identificar a circulação de *Alphacoronavirus* em morcegos dos gêneros *Artibeus* sp., *Carollia* sp. e *Glossophaga* sp. usando material fecal e primers de detecção genérica (pancoronavírus) como método de detecção molecular (MOREIRA-SOTO *et al.*, 2015).

Os achados positivos deste trabalho, na proporção de 14,5% vão de encontro a alguns achados de frequência realizados na China, Itália, América do Norte e Alemanha (WOO *et al.*, 2006; DOMINGUEZ *et al.*, 2007; WATANABE *et al.*, 2010; LELLI *et al.*, 2013).

Diferentemente do que acontece com o vírus rábico, o coronavírus não é capaz de causar sintomatologia aos morcegos - mesmo causando leves danos teciduais - e por mais que eles sejam tolerantes a infecção, não está clara a dose infectante do vírus (RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022) podendo esta informação ser um limitante para

diagnósticos moleculares simples ou utilizando *primers* para detecção genérica (pancoronavírus), visto que esta detecção é realizada em fragmentos muito curtos do genoma.

É possível determinar que o coronavírus em morcegos tem tropismo pelo trato respiratório e gastrointestinal (MUNSTER *et al.*, 2016), demonstrando que a escolha dos órgãos destes sistemas corrobora com a possibilidade de detecção deste agente viral.

Pesquisadores afirmam que os ciclos reprodutivos podem influenciar o ciclo e a transmissão de microrganismos nas comunidades de morcegos, podendo comprometer o comportamento e o padrão fisiológico do vírus, dentre os animais positivos para coronavírus (RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022). Neste trabalho, apenas três deles foram considerados jovens na identificação visual, os 26 restantes todos adultos, podendo também ser uma justificativa para a impossibilidade de detecção nos espécimes.

Além disso, a qualidade das amostras também pode ter impactado na impossibilidade da identificação. Foram utilizadas amostras cedidas pelo Programa de Vigilância e Controle da Raiva provenientes de diferentes municípios que tiveram que enviar os espécimes até o laboratório (impactando no tempo *pós morte*) e o procedimento de armazenamento dos animais em temperatura de freezer (-20°C) até o momento da cessão e necropsia.

Este ponto da viabilidade das amostras também foi observado por Jung e Chae (2004) e por Misra e seus colaboradores (2009) que inferiram que a demora da entrega bem como o tempo de armazenamento das amostras impacta diretamente na viabilidade de detecção de vírus (principalmente os RNA).

A opção pela detecção genérica como forma de triagem para o coronavírus teve o intuito de abranger a maior quantidade de tipos virais possíveis de detecção, este método já foi utilizado por outros autores com sucesso (MOREIRA-SOTO *et al.*, 2015; ASANO *et al.*, 2016; RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022).

Morcegos são capazes de se coinfetar com diferentes genótipos (do mesmo vírus) ou compartilhar espaço com outras famílias virais (RUIZ-ARAVENA *et al.*, 2022), podendo afetar a disseminação do(s) vírus. Neste trabalho também foi possível verificar a (suposta) coinfecção entre coronavírus e rotavírus em três dos espécimes avaliados, necessitando de um maior entendimento desta dinâmica de transmissão.

Para Saúde Única, a dispersão de novos tipos virais deve ser considerada as intensas mudanças no habitat dos morcegos - estresse, baixa disponibilidade de alimentos, mudanças climáticas, desmatamento, ecoturismo, comércio ilegal de animais silvestres (RULLI *et al.*, 2021). A habilidade que temos de entender a capacidade de morcegos não manifestarem sintomatologia (apesar de multiplamente infectado) ou de conseguir transpassar barreiras de transmissão (direta ou indireta) para outros animais e/ou seres humanos, é que faz essa espécie ser mundialmente estudada, sendo necessária a vigilância constante de todo espécime que possível (TIAN *et al.*, 2022).

iii) Hepatite E

Os estudos envolvendo animais como possíveis reservatórios ao vírus da hepatite E é recente, em meados de 1997 houve o primeiro isolamento em suínos e desde então diferentes animais (e possíveis hospedeiros) vem sendo analisado (MENG *et al.*, 1997).

No Brasil, poucas são as investigações dos reservatórios e transmissores ativos deste agente viral, sendo mais investigado o segmento da transmissão por alimentos (SOARES *et al.*, 2022)

Ao se compararem as sequências nucleotídicas de morcegos com o restante dos grupos virais, a semelhança gira em torno de 50% até menos, tanto que foram todos agrupados em um gênero separado dos demais. Em estudo com mais de 90.000 amostras provenientes de banco de sangue humano não foram suficientes para evidenciar a transmissão zoonótica do vírus da hepatite E por morcegos (DREXLER *et al.*, 2012).

Como visto no item 5.1. (iv), desta discussão os primers utilizados para o diagnóstico deste agente tem como alvo uma região conservada do gene ORF 1 demonstrando ser capaz de detectar os quatro grupos (A-D) do vírus da hepatite E.

Apesar disso, sua importância ao sistema de vigilância ainda se faz necessária, o entendimento do HEV é recente e ao que parece, os morcegos foram recentemente estreitados na relação evolutiva com esse vírus, podendo em algum momento levar ao extravasamento de hospedeiro, para outros animais e até mesmo ao ser humano (WANG ; YANG, 2022).

Neste trabalho, não foi possível a detecção de amostras positivas para HEV para morcegos sinantrópicos (item 4.1; iii), apesar de todas as técnicas de reprodutibilidade utilizadas (item 3.5) e de todos os controles funcionarem de acordo com o esperado. Mas como bem demonstrado pela literatura são importantes reservatórios para os vírus da hepatite E com íntima relação a estirpes virais encontradas em suínos (KOBAYASHI *et al.*, 2018), portanto, sugere-se que esta busca e vigilância seja estabelecida também em localidades próximas a granjas de animais.

4.5. DISCUSSÕES GERAIS

Este trabalho, iniciado em 2018, antes de qualquer suposição da emergência de COVID, já trabalhava dentro de uma perspectiva de Saúde Única, com sinergia de esforços entre entidades de pesquisa e serviços oficiais de monitoramento de animais, algo já há muito conhecido na Medicina Veterinária Preventiva, mas que em função do cenário sanitário mundial, tornou-se ainda mais relevante.

Presenciou-se neste período de pandemia de COVID-19, um aumento global nos relatos de problemas relacionados a roedores, podendo ser em parte justificado pelo fato que o isolamento social contribuiu para o aumento da produção de resíduos e a diminuição na frequência da coleta seletiva, proporcionando condições ecológicas favoráveis e conseqüentemente uma maior proliferação da espécie (BATTERSBY 2015).

Estes fatores, em conjunto convergem para a necessidade de investimento em políticas públicas destinadas a vigilância de animais sinantrópicos de forma contínua, ininterrupta e otimizada, inclusive quanto ao aproveitamento ou reaproveitamento de amostras aqui desenvolvido, de modo a consolidar um sistema de investigação de doenças emergentes e reemergentes em seres humanos.

Também deve ser ponderado o fato de que os testes moleculares, apesar da sua possibilidade de detecção e caracterização de agentes, não permitem inferir aspectos da viabilidade e capacidade infecciosa dos agentes virais encontrados. Ficam como perspectivas de futuras investigações dentro do escopo aqui abordado:

- a) avaliação completa do genoma da amostra (fecal ou pool de órgãos) por técnicas de sequenciamento de nova geração;
- b) avaliação por cultivo celular das amostras positivas para melhor caracterização do seu comportamento;
- c) amplificação para pesquisa/detecção de outros vírus;
- d) o desenvolvimento de metodologias e fluxogramas de trabalho para melhor aproveitamento da amostra, transporte e concentração viral.

Evidentemente isso passa pela capacitação de recursos humanos, disponibilidade de investimentos e continua pesquisa destes e outros agentes virais, bacterianos e parasitários.

5. CONCLUSÕES

As conclusões deste estudo foram:

- Não houve evidências da circulação de rotavírus, coronavírus, vírus da hepatite E e hantavírus em roedores;
- Há potencial circulação de rotavírus e coronavírus em morcegos circulantes no Estado de São Paulo a partir das amostras provenientes de diferentes municípios testados;
- Não foi possível a realização do sequenciamento nucleotídico das amostras de rotavírus e coronavírus, implicando na busca de outras possíveis regiões genéticas para detecção ou emprego de outras técnicas para tal finalidade;
- Foi possível a realização de um trabalho sinérgico entre entidades de pesquisa e serviços oficiais de monitoramento de animais, resultando em ações que promovem a Saúde Única dentro de um sistema de vigilância de agentes virais de importância ao cenário de Saúde Humana e Animal.

7. REFERÊNCIAS

AHMED, M.U.; KOBAYASHI, N.; WAKUDA, M.; SANEKATA, T.; TANIGUCHI, K.; KADER, A.; NAIK, T.N.; ISHINO, M.; ALAM, M.M.; KOJIMA, K.; MISE, K.; SUMI, A. Genetic analysis of group B human rotaviruses detected in Bangladesh in 2000 and 2001. **J Med Virol**, v. 72, p.149-155, 2004.

AITICHOU, M.; SALEH, S.S.; MCELROY, A.K.; SCHMALJOHN, C.; IBRAHIM, M.S. Identification of Dobrava, Hantaan, Seoul, and Puumala viruses by one-step real-time RT-PCR. **J Virol Methods**, v. 124, n. 1-2, p. 21-6, 2005.

AMARAL, C.D.; COSTA, G.B.; DE SOUZA, W.M.; ALVES, P.A.; BORGES, I.A.; TOLARDO, A.L.; ROMEIRO, M.F.; DRUMOND, B.P.; ABRAHÃO, J.S.; KROON, E.G.; PAGLIA, A.P.; FIGUEIREDO, L.T.M.; DE SOUZA TRINDADE, G. Silent Orthohantavirus Circulation Among Humans and Small Mammals from Central Minas Gerais, Brazil. **EcoHealth**, v. 15, p. 577-89, 2018.

ARANKALLE, V.A.; JOSHI, M.V.; KULKARNI, A.M.; GANDHE, S.S.; CHOBE, L.P.; RAUTMARE, S.S.; MISHRA, A.C.; PADBIDRI, V.S. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in different Indian animal species. **J Viral Hepat**, v. 8, p. 223-227, 2001.

ASANO, K.M.; GREGORI, F.; HORA, A.S.; SCHEFFER, K.C.; FAHL, W.O.; IAMAMOTO, K.; MORI, E.; SILVA, F.D.; TANIWAKI, S.A.; BRANDÃO, P.E. Goup A rotavirus in Brazilian bats: description of novel T15 and H15 genotypes. **Arch Virol**, 161(11):3225-30, 2016.

ASSIS, S.B.; SOUTO, F.J.; FONTES, C.J.; GASPAR, A.M. Prevalence of hepatitis A and E virus infection in school children of an Amazonian municipality in Mato Grosso State. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 35, p.155-158, 2002.

AVSIC-ZUPANC, T.; SAKSIDA, A.; KORVA, M. Hantavirus infections. **Clin Microbiol Infect.**, n. 1-11, 2016.

AWONIYI, A. M.; VENEGAS-VARGAS, C.; SOUZA, F. N.; ZEPPELINI, C. G.; HACKER, K. P.; CARVALHO-PEREIRA, T.; MARINS, C. L.; SANTANA, M. C.; PERTILE, A. C.; BEGON, M.; KO, A. I.; DIGGLE, P. J.; REIS, M. G.; CHILDS, J. E.; SILVA, E. M.; COSTA, F.; KHALIL, H. Population dynamics of synanthropic rodents after a chemical and infrastructural intervention in an urban low-income community. **Sci Rep**, v. 12, p. 10109, 2022.

BAI, X. F.; HUANG, C. S. Study farther on hemorrhagic fever with renal syndrome. **Chin J Infect Dis**, v. 20, p. 197-198, 2002.

BAI, X.; XU, Z. Hemorrhagic fever with renal syndrome. **Beijing: People's Medical Publishing House**, p. 722, 2013.

BALAYAN, M.S.; ANDJAPARIDZE, A. G.; SAVINSKAYA, S. S. Evidence for a virus in non-a, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. **Intervirology**, v. 20, n.1, p. 23-31, 1983.

BÁNYAI, K.; KEMENESI, G.; BUDINSKI, I. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. **Infect Genet Evol**, v. 48, p. 19-26, 2017.

BARROS, B. C. V.; CHAGAS, E. N.; BEZERRA, L.W.; RIBEIRO, L.G.; DUARTE JÚNIOR, J. W. B.; PEREIRA, D.; PENHA JUNIOR, E. T. D.; SILVA, J. R.; BEZERRA, D. A. M.; BANDEIRA, R. S.; PINHEIRO, H. H. C.; GUERRA, S. F. D. S.; GUIMARÃES, R. J. P. S. E.; MASCARENHAS, J. D. P. Correction: Rotavirus A in wild and domestic animals from areas with environmental degradation in the Brazilian Amazon. **PLOS ONE**, v. 14, n. 1, p. e0211311, 2019.

BATTERSBY, J. **Food insecurity among urban households**. In Fukuda-Parr S ; Taylor V (eds.), Food security in South Africa: Human rights and entitlement perspectives. Claremont: UCT Press, 2015.

BEAUDETTE, F. R.; HUDSON, C. B. Cultivation of the virus of infectious bronchitis. **J Am Vet Med Assoc**, v. 90, p.51-8, 1937.

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, p. 1011-33, 2012.

BENAVIDES, J. A.; MEGID, J.; CAMPOS, A.; HAMPSON, K. Using Surveillance of Animal Bite Patients to Decipher Potential Risks of Rabies Exposure From Domestic Animals and Wildlife in Brazil. **Front. Public Health**, v. 8, p. 318, 2020.

BEROIS, M.; SAPIN, C.; ERK, I.; PONCET, D.; COHEN, J. Rotavirus nonstructural protein NSP5 interacts with major core protein VP2. **J Virol**, v. 77, n. 3, p. 1757-63, 2003.

BESERRA, L. A. R.; GREGORI, F. Description of Rotavirus F in Broilers from Brazilian Poultry Farms. **Avian Dis**, v. 58, n. 3, p. 458-61, 2014.

BI, Z.; FORMENTY, P. B.; ROTH, C. E. Hantavirus infection: a review and global update. **J Infect Dev Ctries**, v. 1, n. 2, p. 3-23, 2008.

BOEY, K.; SHIOKAWA, K.; AVSAROGLU, H.; RAJEEV, S. Seroprevalence of rodent pathogens in wild rats from the Island of St. Kitts, West Indies. **Animals**, v. 10, n. 9, e. 5, p. pii: E228, 2019.

BOURDETT-STANZIOLA, L.; CENTENO, E.; NORDGREN, J.; DURANT-ARCHIBOLD, A. A.; ORTEGA-BARRIA, E.; BUCARDO, F. Potential Bat-like Rotavirus in Hospitalized Children with Diarrhea from the Dominican Republic. **Asian Journal of Research in Infectious Diseases**, v. 8, n. 1, p. 1-7, 2021)

BRANDÃO, P.E.; GRAVINATTI, M. L.; SANTANA, N. F. C.; HORA, A. S. Coronaviruses: there and back again. **ARS VETERINARIA**, v. 36, n. 2, p.59-71, 2020.

BRASIL **Constituição da República Federativa do Brasil de 1988**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicao.htm>. Acesso em: 10 de junho d 2022.

BRASIL. **Fundação Nacional de Saúde. Manual de controle de roedores**. - Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2002. 132p.: il. Disponível em: <https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_roedores1.pdf>. Acesso em 10 de junho de 2022.

BRASIL. **Hantavirose. Ministério da Saúde.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hantavirose-1>>. Acesso em 15 de maio de 2022.

BRASIL. **Lei nº 9.605, de 12 de fevereiro de 1998.** Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l9605.htm>. Acesso em 09 de junho de 2022.

BRASIL. **Ministério da Saúde.** Governo Federal, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/h/hantavirose-1>>. Acesso em 12 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de normas técnicas para estruturas físicas de unidades de vigilância de zoonoses** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017. 68 p. : il. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/normas_tecnicas_estruturas_fisicas_unidades_vigilancia_zoonoses.pdf>. Acesso em 08 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância, prevenção e controle das hantavirose** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2013. 94 p. : il. Disponível em: <https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_prevencao_controle_hantavirose.pdf> Acesso em 13 de junho de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 1.126 p.: il. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/r/raiva#:~:text=O%20Programa%20Nacional%20de%20Profilaxia,da%20raiva%20urbana%20no%20pa%C3%ADs>>. Acesso em 07 de junho de 2022.

BRASIL. **Norma Técnica nº 19 de 2012.** Disponível em: <https://www.ribeiraopreto.sp.gov.br/files/ssauade/pdf/dvas-nota-tecnica_2012_19_raiva.pdf>. Acesso em 06 de junho de 2022.

BRASIL. Portalms.saude.gov.br [homepage on the Internet]. Brasil: Ministério da Saúde. INC. **Situação epidemiológica – dados hantavirose.** [update 2019 Sep 15; cited 2019 Oct 01]. Available from: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-a-z/hantavirose/11304-situacao-epidemiologica-dados>.

BUTTAFUOCO, A.; MICHAELSEN, K.; TOBLER, K.; ACKERMANN, M.; FRAEFEL, C.; EICHWALD, C. Conserved Rotavirus NSP5 and VP2 Domains Interact and Affect Viroplasm. **J Virol**, v. 17, n. 94, e. 7, p. e01965-19, 2020.

CAIMING, Q.; YUN, L.; QENQING, Y.; YINGWEI, S.; YANGHUAN, H.; JIBO, Z. Etiology and molecular biology analysis of rats infected with HFRS in Liaoning Province. **Chinese Journal of Zoonoses**, v. 26, p. 528–531, 2010.

CALISHER, C. H.; CHILDS, J. E.; FIELD, H. E.; HOLMES, K. V.; SCHOUNTZ, T. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. **Clin Microbiol Rev**, v. 19, n. 3, p. 531-45, 2006.

CARRILHO, F. J.; MENDES-CLEMENTE, C.; SILVA, L.C. Epidemiology of hepatitis A and E virus infection in Brazil. **Gastroenterol Hepatol**, v. 28, p. 118-125, 2005.

CAVIA, R.; CUETO, G. R.; SUÁREZ, O. V. Changes in rodent communities according to the landscape structure in an urban ecosystem. **Landsc. Urban Plan**, v. 90, n. 1-2, p. 11-9, 2009.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Laboratory management of agents associated with hantavirus pulmonary syndrome: interim biosafety guidelines**. MMWR 1994; 43(No. RR-7): [1-14].

CHAGAS, C. R. F.; GONZALEZ, I. H. L.; FAVORETTO, S. M.; RAMOS, P.L. Parasitological surveillance in a rat (*Rattus norvegicus*) colony in São Paulo Zoo animal house. **Ann Parasitol**, v. 63, n. 4, p. 291-7, 2017.

CHANG, K. O.; PARWANI, A. V.; SMITH, D.; SAIF, L.J. Detection of group B rotaviruses in fecal samples from diarrheic calves and adult cows and characterization of their VP7 genes. **J. Clin. Microbiol**, v. 35, p. 2107-2110, 1997.

CHANNON, D.; CHANNON, E.; ROBERTS, T.; HAINES, R. Hotspots: are some areas of sewer prone to re-infestation by rats (*Rattus norvegicus*) year after year? **Epidemiology and Infectology**, v. 134, p. 41-48, 2006.

CHAZAL, N. Coronavirus, the King Who Wanted More Than a Crown: From Common to the Highly Pathogenic SARS-CoV-2, Is the Key in the Accessory Genes? **Front Microbiol**, v. 12, p. 682603, 2021.

CHILDS, J. E.; GLASS, G. E.; KORCH, G. W.; LEDUC, J. W. Effects of hantaviral infection on survival, growth and fertility in wild rat (*Rattus norvegicus*) populations of Baltimore, Maryland. **J Wildl Dis**, v. 25, n. 4, p. 69-76, 1989.

CHILDS, J. E.; KSIAZEK, T. G.; ROSSI, C. A.; ORO, J. G.; LEDUC, J.W. Human-rodent contact and infection with lymphocytic choriomeningitis and Seoul viruses in an inner-city population. **Am J Trop Med Hyg**, v. 44, p. 117-21, 1991.

CHINSANGARAM, J.; SCHORE, C. E.; GUTERBOCK, W.; WEAVER, L. D.; OSBURN, B.I. Prevalence of group A and group B rotaviruses in the feces of neonatal dairy calves from California. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis**, v. 18, p. 93 - 103, 1995.

CHU, D. K.; LEUNG, C. Y.; GILBERT, M.; JOYNER, P. H.; NG, E. M.; TSE, T. M.; GUAN, Y.; PEIRIS, J. S.; POON, L. L. Avian Coronavirus in Wild Aquatic Birds. **J Virol**, v. 85, n. 23, p. 12815-20, 2011.

CLEMENT, J.; LEDUC, J. W.; LLOYD, G.; REYNES, J. M.; McELHINNEY, L.; VAN RANST, M.; LEE, H. W. Wild Rats, Laboratory Rats, Pet Rats: Global Seoul Hantavirus Disease Revisited. **Viruses**, v. 11, n. 7, p. 652, 2019a.

CLEMENT, J.; LEDUC, J. W.; LLOYD, G.; REYNES, J. M.; McELHINNEY, L.; VAN RANST, M.; LEE, H. W. Clinical Characteristics of Ratborne Seoul Hantavirus Disease. **Emerg Infect Dis**, v. 25, n. 2, p. 387-8, 2019b.

COLEMAN, C. M.; MATTHEWS, K. L.; GOICOCHEA, L.; FRIEMAN, M.B. Wild type and innate immune deficient mice are not susceptible to the Middle East respiratory syndrome coronavirus. **J Gen Virol**, v. 95, p. 408-12, 2014.

COLOMBO, V. C.; SLUYDTS, V.; MARIËN, J.; VANDEN BROECKE, B.; VAN HOUTTE, N.; LEIRS, W.; JACOBS, L.; ISERBYT, A.; HUBERT, M.; HEYNDRIKX, L.; GORIS, H.; DELPUTTE, P.; DE ROECK, N.; ELST, J.; ARIËN, K. K.; LEIRS, H.; GRYSSELS, S. SARS-CoV-2 surveillance in Norway rats (*Rattus norvegicus*) from Antwerp sewer system, Belgium. **Transbound Emerg Dis**, v. 5, p.10.1111/tbed.14219, 2021.

CORNWALL, W. **In Brazil, a plague of rats signals what may come in a more urban world**, 2016. Disponível em: <<https://www.science.org/content/article/brazil-plague-rats-signals-what-may-come-more-urban-world>>. Acesso em 15 de junho de 2022.

COSTA, F.; CARVALHO-PEREIRA, T.; BEGON, M.; RILEY, L.; CHILDS, J. Zoonotic and Vector-Borne Diseases in Urban Slums: Opportunities for Intervention. **Trends Parasitol**, v. 33, n. 9, p. 660-2, 2017.

CUETO, G. R.; CAVIA, R.; BELLOMO, C.; PADULA, P. J.; SUÁREZ, O. V. Prevalence of hantavirus infection in wild *Rattus norvegicus* and *R. rattus* populations of Buenos Aires City, Argentina. **Trop Med Int Health**, v. 13, n. 1, p. 46-51, 2008.

CUNHA, J. M. P. Migração e urbanização no Brasil: alguns desafios metodológicos para análise. **São Paulo Perspec**, v.19, n. 4, 2005.

de WIT, E.; PRESCOTT, J.; BASELER, L.; BUSHMAKER, T.; THOMAS, T.; LACKEMEYER, M. G.; MARTELLARO, C.; MILNE-PRICE, S.; HADDOCK, E.; HAAGMANS, B. L.; FELDMANN, H.; MUNSTER, V. J. The Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) does not replicate in Syrian hamsters. **PLoS One**, v. 8, p.e69127, 2013.

DENNER, J. Hepatitis E virus (HEV) - The future. **Viruses**, v.11, p. 251, 2019.

DOMINGUEZ, S. R.; O'SHEA, T. J.; OKO, L. M.; HOLMES, K. V. Detection of group 1 coronaviruses in bats in North America. **Emerg Infect Dis**, v. 13, p.1295-300, 2007.

DREXLER, J. F.; CORMAN, V. M.; DROSTEN, C. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. **Antiviral Res**, v. 101, p.45-56, 2014.

DREXLER, J. F.; SEELEN, 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*. **J Virol**, v. 86, n. 17, p. 9134-47, 2012.

DROSTEN, C.; GÜNTHER, S.; PREISER, W.; VAN DER WERF, S.; BRODT, H. R.; BECKER, S.; RABENAU, H.; PANNING, M.; KOLESNIKOVA, L.; FOUCHIER, R. A.;

BERGER, A.; BURGUIÈRE, A. M.; CINATL, J.; EICKMANN, M.; ESCRIOU, N.; GRYWNA, K.; KRAMME, S.; MANUGUERRA, J. C.; MÜLLER, S.; RICKERTS, V.; STÜRMER, M.; VIETH, S.; KLENK, H. D.; OSTERHAUS, A. D.; SCHMITZ, H.; DOERR, H.W. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. **N Engl J Med**, v. 15, n. 348, e. 20, p.1967-76, 2003.

EIDEN, J. J.; NATARO, J.; VONDERFECHT, S.; PETRIC, M. Molecular cloning, sequence analysis, *in vitro* expression, and immunoprecipitation of the major inner capsid protein of the IDIR Strain of Group B Rotavirus (GBR). **Virol J**, v. 188, p. 580-9, 1992.

ESCUTENAIRE, S.; MOHAMED, N.; ISAKSSON, M.; THORÉN, P.; KLINGEBORN, B.; BELÁK, S.; BERG, M.; BLOMBERG, J. SYBR Green real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for the generic detection of coronaviruses. **Arch Virol**, v. 152, n. 1, p. 41-58, 2007.

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*). **Emerg Infect Dis**, v. 16, n. 12, p. 1844-52, 2010.

ESTES, M.; GREENBERG, H. B. **Rotaviruses**. In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P. M.; COHEN, J. I.; GRIFFIN, D.E.; LAMB, R. A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; RACANIELLO, V. R. Fields virology. 6th ed. Pennsylvania: Lippincott Williams;1347-401, 2013.

FAGRE, A.; LEWIS, J.; ECKLEY, M.; ZHAN, S.; ROCHA, S. M.; SEXTON, N. R.; BURKE, B.; GEISS, B.; PEERSEN, O.; KADING, R.; ROVNAK, J.; EBEL, G. D.; TJALKENS, R. B.; ABOELLAIL, T.; SCHOUNTZ, T. SARS-CoV-2 infection, neuropathogenesis and transmission among deer mice: Implications for reverse zoonosis to New World rodents. **BioRxiv**, pmid:32793912, 2020.

FANG, Z. Y.; GLASS, R. I.; PENARANDA, M. D.; ONG, H.; MONROE, S. S.; WEN, L.; ESTES, M. K.; EIDEN, J.; YOLKEN, R. H.; SAIF, L. Purification and characterization of adult diarrhea rotavirus: identification of viral structural proteins. **J Virol**, v. 63, n. 5, p. 2191-7, 1989.

FENG, Z.; LEMON, S. M. Peek-a-boo: membrane hijacking and the pathogenesis of viral hepatitis. **Trends Microbiol**, v. 22, n. 2, p. 59-64, 2014.

FERNANDES, J.; OLIVEIRA, R. C.; COELHO, T. A.; MARTINS, R. M. B.; CAETANO, K. A. A.; HORTA, M. A. P.; LEVIS, S.; CARNEIRO, M. A. D. S.; TELES, S. A.; LEMOS, E. R. S. Rodent-borne viruses survey in rural settlers from Central Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 114, p. e180448, 2019.

FERRES, M.; VIAL, P.; MARCO, C.; YANEZ, L.; GODOY, P.; CASTILLO, C.; HJELLE, B.; DELGADO, I.; LEE, S. J.; MERTZ, G. J. Andes virus household contacts study group. Prospective evaluation of household contacts of persons with Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome in Chile. **J Infect Dis**, v. 195, n. 11, p. 1563-71, 2007.

FIGUEIREDO, G. G.; BORGES, A. A.; CAMPOS, G. M.; MACHADO, A. M.; SAGGIORO, F. P.; SABINO JÚNIOR, G. S.; BADRA, S. J.; ORTIZ, A. A. A.; FIGUEIREDO, L. T. M. Diagnosis of hantavirus infection in humans and rodents in

Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 4, p. 348-354, 2010.

FILIPPONE, C.; CASTEL, G.; MURRI, S.; BEAULIEUX, F.; ERMONVAL, M.; JALLET, C.; WISE, E. L.; ELLIS, R. J.; MARSTON, D. A.; McELHINNEY, L. M.; FOOKS, A. R.; DESVARS, A.; HALOS, L. G.; VOUREC'H, G.; MARIANNEAU, P.; TORDO, N. Discovery of hantavirus circulating among *Rattus rattus* in French Mayotte island, Indian Ocean. **J Gen Virol**, v. 97, n. 5, p. 1060-5, 2016.

FIRTH, C.; BHAT, M.; FIRTH, M. A. Detection of Zoonotic Pathogens and Characterization of Novel Viruses Carried by Commensal *Rattus norvegicus* in New York City. **Mbio**, v. 5, n. 5, p. 1-16, 2014.

FLORES, P. S.; COSTA, F. B.; AMORIM, A.R.; MENDES, G.S.; ROJAS, M., SANTOS, N. Rotavirus A, C, and H in Brazilian pigs: potential for zoonotic transmission of RVA. **J Vet Diagn Invest**, v. 33, n. 1, p. 129-135, 2021.

FONSECA, L. X.; OLIVEIRA, S. V.; DUARTE, E. C. Magnitude e distribuição dos óbitos por hantaviose no Brasil, 2007-2015. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 27, n. 2, p.e2017221, 2018.

FUNK, C. J.; MANZER, R.; MIURA, T.A.; GROSHONG, S.D.; ITO, Y.; TRAVANTY, E.A.; LEETE, J.; HOLMES, K.V.; MASON, R.J. Rat respiratory coronavirus infection: replication in airway and alveolar epithelial cells and the innate immune response. **J Gen Virol**, v. 90, p. 2956-64, 2009.

GE, X. Y.; YANG, W. H.; ZHOU, J. H.; LI, B.; ZHANG, W.; SHI, Z. L.; ZHANG, Y. Z. Detection of alpha- and betacoronaviruses in rodents from Yunnan, China. **Virol J**, v. 14, p. 98, 2017.

GÉLINAS, A. M.; BOUTIN, M.; SASSEVILLE, A. M.; DEA, S. Bovine coronaviruses associated with enteric and respiratory diseases in Canadian dairy cattle display diferente reactivities to anti-HE monoclonal antibodies and distinct amino acid changes in their HE, S and ns4.9 protein. **Virus Res**, v. 7, p. 43-57, 2001.

GORBUNOVA, V.; SELUANOV, A.; KENNEDY, B. K. The World Goes Bats: Living Longer and Tolerating Viruses. **Cell Metab**, v. 7, n. 32, e. 1, p. 31-43, 2020.

GOZALAN, A.; KALAYCIOGLU, H.; UYAR, Y.; SEVINDI, D. F.; TURKYILMAZ, B.; ÇAKIR, V.; CINDEMIR, C.; UNAL, B.; YAĞÇI-ÇAĞLAYIK, D.; KORUKLUOĞLU, G.; ERTEK, M.; HEYMAN, P.; LUNDKVIST, Å. Human Puumala and Dobrava Hantavirus infections in the Black Sea region of Turkey: a cross-sectional study. **Vector Borne Zoonotic Dis**, v. 13, n. 2, p. 111-8, 2013.

GREGORIN, R.; TADDEI, V.A. Chave artificial para a identificação de Molossídeos brasileiros (Mammalia, Chiroptera). **Mastozoología Neotropical**, v. 9, n. 1, p. 13-32, 2002.

GUIA Rio Grande do Sul. Secretaria Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. **Guia de Manejo e Controle de Morcegos**. Técnicas de identificação, captura e coleta. 2.ed./ Org. André Alberto Witt - Porto Alegre: CEVS/RS, 2018. 140 p. Disponível em: <<https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201909/24093745-2018-guia-morcegos.pdf>>. Acesso em 08 de junho de 2022.

GUTERRES, A.; LEMOS, E. R. S. Hantaviruses and a neglected environmental determinant. **One Health**, v. 5, p. 27-33, 2018.

HAMDAN, N. E.; NG, Y. L.; LEE, W. B.; TAN, C. S.; KHAN, F. A.; CHONG, Y. L. Species Distribution and Hantavirus Seroprevalence in Residential and Forested areas of Sarawak, Malaysia. **Trop Life Sci Res**, v. 28, n. 1, p. 151-9, 2017.

HANSEN, A.; CAMERON, S.; LIU, Q.; SUN, Y.; WEINSTEIN, P.; WILLIAMS, C.; HAN, G. S.; BI, P. Transmission of Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome in China and the role of climate factors: a review. **Int J Infect Dis**, v. 33, p. 212-8, 2015.

HARDMEIER, I.; AEBERHARD, N.; QI, W.; SCHOENBAECHLER, K.; KRAETTLI, H.; HATT, J. M.; FRAEFEL, C.; KUBACKI, J. analysis of fecal and tissue samples from 18 endemic bat species in Switzerland revealed a diverse virus composition including potentially zoonotic viruses. **PLoS ONE**, v. 16, p. e0252534, 2021.

HJELLE, B.; TORRES-PÉREZ, F. Hantaviruses in the Americas and Their Role as Emerging Pathogens. **Viruses**, v. 2, n. 12, p. 2559-86, 2010.

HOFMANN, J.; MEIER, M.; ENDERS, M.; FÜHRER, A.; ETTINGER, J.; KLEMPA, B.; SCHMIDT, S.; ULRICH, R. G.; KRUGER, D.H. Hantavirus disease in Germany due to infection with Dobrava-Belgrade virus genotype Kurkino. **Clin Microbiol Infect**, v. 20, n. 10, p. O648-55, 2010.

HOLMES, K. V.; LAI, M.M.C. **Coronaviridae: the viroses and their replication**. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM., Virology. 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher;1075–93, 1996.

HUGGINS, J. W.; HSIANG, C.M.; COSGRIFF, T.M.; GUANG, M.Y.; SMITH, J.I.; WU, Z.O.; LEDUC, J.W.; ZHENG, Z.M.; MEEGAN, J.M.; WANG, Q.N.; *et al.* Prospective, double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of hemorrhagic fever with renal syndrome. **J Infect Dis**, v.164, p. 1119-27, 1991.

IANIRO, G.; DI BARTOLO, I.; DE SABATO, L.; PAMPIGLIONE, G.; RUGGERIA, F. M; OSTANELLO, F. Detection of uncommon G3P[3] rotavirus A (RVA) strain in rat possessing a human RVA-like VP6 and a novel NSP2 genotype. **Infect Genet Evolut**, v. 53, p. 206-11, 2017.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Instrução Normativa 141, de 19 de dezembro de 2006**. Disponível em: <<https://www.ibama.gov.br/component/legislacao/?view=legislacao;legislacao=112966#:~:text=%2D90%2C%20resolve%3A-,%20Art.,Agricultura%20ou%20do%20Meio%20Ambiente>>. Acesso em 06 de junho de 2022.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). **International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)** [Internet]. Disponível em: <<https://talk.ictvonline.org/>>. Acesso em: 04 de junho de 2022.

ISLAM, A.; HOSSAIN, M.E.; ROSTAL, M.; FERDOUS, J.; ISLAM, A.; HASAN, R.; MIAH, M.; RAHMAN, M.; RAHMAN, M. Z.; DASZAK, P.; EPSTEIN, J. H. Epidemiology and molecular characterization of rotavirus A in bats and rhesus macaques at human-

wildlife interfaces in Bangladesh. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 101, n. 1, p. 531-532, 2020a.

ISLAM, A.; HOSSAIN, M.E.; ISLAM, A.; ISLAM, S.; RAHMAN, M.K.; HASAN, R.; MIAH, M.; RAHMAN, M.Z. Epidemiology of Group A rotavirus in rodents and shrews in Bangladesh. **Vet Res Commun**, v. 5, p. 1-10, 2022.

ITURRIZA-GOMARA, M.; GREEN, J.; BROWN, D.W.; DESSELBERGER, U.; GRAY, J.J. Comparison of specific and random priming in the reverse transcriptase polymerase chain reaction for genotyping group A rotaviruses. **J Virol Methods**, v. 78, p. 93-103, 1999.

IWATA-YOSHIKAWA, N.; FUKUSHI, S.; FUKUMA, A.; SUZUKI, T.; TAKEDA, M.; TASHIRO, M.; HASEGAWA, H.; NAGATA, N. Non Susceptibility of Neonatal and Adult Rats against the Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus. **Jpn J Infect Dis**, v. 22, n. 69, e. 6, p.510-6, 2016.

JIAN, Z.; LI, Y.; XU, Z.; ZHAO, J.; LI, F.; DENG, H.; SUN, X.; ZHU, L. Research on a rat model of genotype IV swine hepatitis E virus. **Vet Med Sci**, v. 8, n. 2, p. 886-898, 2022.

JIANG, H.; ZHENG, X.; WANG, L.; DU, H.; WANG, P.; BAI, X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. **Viol Sin**, v. 32, n. 1, p. 32-43, 2017.

JOHNE, R.; PLENGE-BÖNIG, A.; HESS, M.; ULRICH, R.G.; REETZ, J.; SCHIELKE, A. Detection of a novel hepatitis E-like virus in faeces of wild rats using a nested broad-spectrum RT-PCR. **J Gen Virol**, v. 91, p.750-8, 2010.

JOHNSON, C.K.; HITCHENS, P.L.; PANDIT, P.S.; Rushmore, J.; Evans, T.S.; Young, C.C.W.; Doyle, M.M. Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. **Proc. R. Soc. B**, v. 8; n. 287, e.1924, 20192736, 2020.

JOHNSTON, R.F. **Synanthropic birds of North America**. In: Marzluff J.M., Bowman R., Donnelly R. (eds) *Avian Ecology and Conservation in an Urbanizing World*. Springer, Boston, MA. 2001.

JONSSON, C.B.; FIGUEIREDO, L.T.; VAPALAHTI, O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. **Clin Microbiol Rev**, v. 23, n. 2, p. 412-41, 2010.

JONSSON, C.B.; HOOPER, J.; MERTZ, G. Treatment of hantavirus pulmonary syndrome. **Antiviral Res**, v. 78, n. 1, p. 162-169, 2008.

JOSHI, M.S.; LOLE, K.S.; BARVE, U.S.; SALVE, D.S.; GANORKAR, N.N.; CHAVAN, N.A.; SHINDE, M.S.; GOPALKRISHNA, V. Investigation of a large waterborne acute gastroenteritis outbreak caused by group B rotavirus in Maharashtra state, India. **J Med Virol**, v. 91, n. 10, p. 1877-81, 2019.

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, 2004.

KABRANE-LAZIZI, Y.; FINE, J.B.; ELM, J.; GLASS, G.E.; HIGA, H.; DIWAN, A.; GIBBS, C.J. JR.; MENG, X.J.; EMERSON, S.U.; PURCELL, R.H. Evidence for wide-

spread infection of wild rats with hepatitis E virus in the United States. **Am J Trop Med Hyg**, v. 61, p. 31-335, 1999.

KAMAR, N.; IZOPET, J.; PAVIO, N. Hepatitis E virus infection. **Nat Rev Dis Prim**, v. 3, n. 1, p. 1-16, 2017.

KAMAR, N.; BENDALL, R.; LEGRAND-ABRAVANEL, F.; XIA, N.S.; IJAZ, S.; IZOPET, J.; DALTON H.R. Hepatitis E. **Lancet**, v. 379, n. 9835, p. 2477-2488, 2012.

KANAI, Y.; MIYASAKA, S.; UYAMA, S.; KAWAMI, S.; KATO-MORI, Y.; TSUJIKAWA, M.; YUNOKI, M.; NISHIYAMA, S.; IKUTA, K.; HAGIWARA, K. Hepatitis E virus in Norway rats (*Rattus norvegicus*) captured around a pig farm. **BMC Res Notes**, v. 5, p. 4, 2012.

KAR, P.; KARNA, R. A Review of the Diagnosis and Management of Hepatitis E. **Curr Treat Options Infect Dis**, v. 12, n. 3, p. 310-320, 2020.

KESWICK, B.H.; PICKERING, L.K.; DUPONT, H.L.; WOODWARD, W.E. Survival and detection of rotaviruses on environmental surfaces in day care centers. **Appl Environ Microbiol**, v. 46, n. 4, p. 813-6, 1983.

KIM, H.C.; KIM, W.K.; NO, J.S.; LEE, S.H.; GU, S.H.; CHONG, S.T.; KLEIN, T.A.; SONG, J.W. Urban rodent surveillance, climatic association, and genomic characterization of Seoul virus collected at US. Army Garrison, Seoul, Republic of Korea, 2006-2010. **Am J Trop Med Hyg**, v. 99, n. 2, p. 470-6, 2018.

KING, S.B.; SINGH, M. Comparative genomic analysis reveals varying levels of mammalian adaptation to coronavirus infections. **PLoS Comput Biol**, v. 17, n. 11, p. e1009560, 2021.

KLEMPA, B.; AVSIC-ZUPANC, T.; CLEMENT, J.; DZAGUROVA, T.K.; HENTTONEN, H.; HEYMAN, P.; JAKAB, F.; KRUGER, D.H.; MAES, P.; PAPA, A.; TKACHENKO, E.A.; ULRICH, R.G.; VAPALAHTI, O.; VAHERI, A. Complex evolution and epidemiology of Dobrava-Belgrade hantavirus: definition of genotypes and their characteristics. **Arch Virol**, v. 158, n. 3, p. 521-9, 2013.

KOBAYASHI, T.; MURAKAMI, S.; YAMAMOTO, T.; MINESHITA, K.; SAKUYAMA, M.; SASAKI, R.; MAEDA, K.; HORIMOTO, T. Detection of bat hepatitis E virus RNA in microbats in Japan. **Virus Genes**, v. 54, n. 4, p.599-602, 2018.

KRAAY, A.N.M.; BROUWER, A.F.; LIN, N.; COLLENDER, P.A.; REMAIS, J.V.; EISENBERG, J.N.S. Modeling environmentally mediated rotavirus transmission: The role of temperature and hydrologic factors. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 115, n. 12, p. E2782-E2790, 2018.

KRAUTKRÄMER, E.; ZEIER, M. Old World hantaviruses: aspects of pathogenesis and clinical course of acute renal failure. **Virus Res**, v.187, p. 59-64, 2014.

KREBS, C.J. Demographic changes in fluctuating populations of *Microtus californicus*. **Ecol Monograph**, v. 36, p. 239-73, 1966.

KRUGER, D.H.; SCHONRICH, G.; KLEMPA, B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. **Hum Vaccin**, v. 7, p. 685-93, 2011.

LAENEN, L.; VERGOTE, V.; VANMECHELEN, B.; TERSAGO, K.; BAELE, G.; LEMEY, P.; LEIRS, H.; DELLICOUR, S.; VRANCKEN, B.; MAES, P. Identifying the patterns and drivers of Puumala hantavirus enzootic dynamics using reservoir sampling. **Virus Evol**, v. 5, n. 1, p. vez009, 2019.

LAM, T.T.Y.; JIA, N.; ZHANG, Y.W.; SHUM, M.H.; JIANG, J.F.; ZHU, H.C.; TONG, Y.G.; SHI, Y.X.; NI, X.B.; LIAO, Y.S.; LI, W.J.; JIANG, B.G.; WEI, W.; YUAN, T.T.; ZHENG, K.; CUI, X.M.; LI, J.; PEI, G.Q.; QIANG, X.; CHEUNG, W.Y.; LI, L.F.; SUN, F.F.; QIN, S.; HUANG, J.C.; LEUNG, G.M.; HOLMES, E.C.; HU, Y.L.; GUAN, Y.; CAO, W.C. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in *Malayan pangolins*. **Nature**, v. 583, p. 282-285, 2020.

LANE, T.E.; HOSKING, M.P. The pathogenesis of murine coronavirus infection of the central nervous system. **Crit Rev Immunol**, v. 30, p. 119-30, 2010.

LATINNE, A.; HU, B.; OLIVAL, K.J.; ZHU, G.; ZHANG, L.; LI, H.; CHMURA, A.A.; FIELD, H.E.; ZAMBRANA-TORRELIO, C.; EPSTEIN, J.H.; LI, B.; ZHANG, W.; WANG, L.F.; SHI, Z.L.; DASZAK, P. Origin and cross-species transmission of bat coronaviruses in China. **Nat Commun**, v. 11, p. 4235, 2020.

LAU, S.K.; WOO, P.C.; LI, K.S.; TSANG, A.K.; FAN, R.Y.; LUK, H.K.; CAI, J.P.; CHAN, K.H.; ZHENG, B.J.; WANG, M.; YUEN, K.Y. Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of Betacoronavirus 1 and has implications for the ancestor of Betacoronavirus lineage A. **J. Virol**, v. 89, p. 3076-92, 2015.

LEE, H.W.; BAEK, L.J.; JOHNSON, K.M. Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, from wild urban rats. **J Infect Dis**, v. 146, n. 5, p. 638-44, 1982.

LEE, H.W.; LEE, P.W.; BAEK, L.J.; SONG, C.K.; SEONG, I.W. Intraspecific transmission of Hantaan virus, etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in the rodent *Apodemus agrarius*. **Am J Trop Med Hyg**, v. 30, p. 1106-12, 1981.

LEE, H. W. Hemorrhagic fever with renal syndrome in Korea. **Rev Infect Dis**, v. 11, n. 4, p. S864-76, 1989.

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. 31, n. 5, e. 11, p. 2679-89, 2013.

LESTARI, F.B.; VONGPUNSAWAD, S.; POOVORAWAN, Y. Diverse human and bat-like rotavirus G3 strains circulating in suburban Bangkok. **PLoS ONE**, v. 17, n. 5, p. e0268465, 2022.

LI, K.; LIN, X-D.; HUANG, K-Y.; ZHANG, B.; SHI, M.; GUO, W.P.; WANG, M.R.; WANG, W.; XING, J.G.; LI, M.H.; HONG, W.S.; HOLMES, E.C.; ZHANG, Y.Z. Identification of novel and diverse rotaviruses in rodents and insectivores, and evidence of cross-species transmission into humans. **Virol**, v. 494, p. 168-77, 2016.

LI, X.; WANG, L.; LIU, P.; HUO, S.; ZONG, K.; ZHU, S.; GUO, Y.; ZHANG, L.; HU, B.; LAN, Y.; CHMURA, A.; WU, G.; DASZAK, P.; LIU, W.J.; GAO, G.F. A Novel Potentially Recombinant Rodent Coronavirus with a Polybasic Cleavage Site in the Spike Protein. **J Virol**, v. 27, n. 95, e. 22, p. e0117321, 2021.

LI, W.; SHI, Z.; 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**, v. 28, n. 310, e. 5748, p. 676-9, 2005.

LINDSAY, D.A.; VONDERFECHT, S.S.; WILLOUGHBY, R.; BETENBAUGH, M.J.; EIDEN, J.J. Identification and expression of the outer capsid protein (VP4) of the IDIR strain of group B rotavirus. **Virology**, v. 194, n. 2, p. 724-33, 1993.

LING, J.; VERNER-CARLSSON, J.; ERIKSSON, P.; PLYUSNINA, A.; LÖHMUS, M.; JÄRHULT, J.D.; VAN DE GOOT, F.; PLYUSNIN, A.; LUNDKVIST, Å.; SIRONEN, T. Genetic analyses of Seoul hantavirus genome recovered from rats (*Rattus norvegicus*) in the Netherlands unveils diverse routes of spread into Europe. **J Med Virol**, v. 91, n. 5, p. 724-30, 2019.

LIU, P.; JIANG, J.Z.; WAN, X.F.; HUA, Y.; LI, L.; ZHOU, J.; WANG, X.; HOU, F.; CHEN, J.; ZOU, J.; CHEN, J. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? **PLoS Pathog**, v. 16, p. e1008421, 2020.

LUNDGREN, O.; SVENSSON, L. Pathogenesis of rotavirus diarrhea. **Microbes Infect**, v. 3, n. 13, p. 1145-56, 2001.

MACKENZIE, J.S.; JEGGO, M. The One Health Approach-Why Is It So Important? **Trop Med Infect Dis**, v. 4, n. 2, p.88, 2019.

MAES, P.; CLEMENT, J.; GAVRILOVSKAYA, I.; VAN RANST, M. Hantaviruses: immunology, treatment, and prevention. **Viral Immunol**, v. 17, p. 481-97, 2004.

MAPA. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Controle da Raiva dos Herbívoros e Encefalopatia Espongiforme Bovina – EEB, 2022**. Disponível em: <[https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/prog-nacional-de-controle-da-raiva-dos-herbivoros-e-outras-encefalopatias#:~:text=Programa%20Nacional%20de%20Controle%20da,morcegos%20hemat%C3%B3fagos%20Desmodus%20rotundus\)%3B](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/sanidade-animal-e-vegetal/saude-animal/programas-de-saude-animal/prog-nacional-de-controle-da-raiva-dos-herbivoros-e-outras-encefalopatias#:~:text=Programa%20Nacional%20de%20Controle%20da,morcegos%20hemat%C3%B3fagos%20Desmodus%20rotundus)%3B)>. Acesso em 06 de junho de 2022.

MARTELLA, V.; BÁNYAI, K.; MATTHIJNSSENS, J.; BUONAVOGLIA, C.; CIARLET, M. Zoonotic aspects of rotaviruses. **Vet Microbiol**, v. 140, n. 3-4, p. 246-55, 2010.

TAKAHASHI, M.; KUNITA, S.; KAWAKAMI, M.; KADOSAKA, T.; FUJITA, H.; TAKADA, N.; MIYAKE, M.; KOBAYASHI, T.; OHNISHI, H.; NAGASHIMA, S.; MURATA, K.; OKAMOTO, H. First detection and characterization of rat hepatitis E Virus (HEV-C1) in Japan. **Virus Research**, v. 314, p.198766, 2022,

MASI, E.; VILAÇA, P.J.; RAZZOLINI, M.T.P. Environmental factors and rodent infestation in Campo Limpo District, São Paulo, Brazil. **Int J Environ Health Res**, v. 19, n. 1, p. 1-16, 2009.

MASI, E.; PINO, F.A.; SANTOS, M.; Genehr, L.; Albuquerque, J.O.M.; Bancher, A.M.; Alves, J.C.M. Socioeconomic and environmental risk factors for urban rodent infestation in Sao Paulo, Brazil. **Journal of Pest Science**, v. 83, n. 3, p. 231-241, 2010.

MATOS, R. Migração e urbanização no Brasil. **Revista Geografias**, 7–23, 2012.

MATTHIJNSSENS, J.; CIARLET, M.; HEIMAN, E.; ARIJS, I.; DELBEKE, T.; MCDONALD, S.M.; PALOMBO, E.A.; ITURRIZAGO, M.; MAES, P.; PATTON, J.T.; RAHMAN, M.; RANST, M.V. Classification of Rotaviruses Reveals a Common Origin between Human Wa-Like and Porcine Rotavirus Strains and Human DS-1-Like and Bovine Rotavirus Strains. **J Virol**, v. 82, n. 7, p. 3204-19, 2008.

MATTHIJNSSENS, J.; HEYLEN, E.; ZELLER, M.; RAHMAN, M.; LEMEY, P.; VAN RANST, M. Phylodynamic analyses of rotavirus genotypes G9 and G12 underscore their potential for swift global spread. **Mol Biol Evol**, v. 27, p. 2431-36, 2010.

MATTHIJNSSENS, J.; OTTO, P.; CIARLET, M.; DESSELBERGER, U.; VAN RANST, M.; JOHNE, R. VP6 sequence-based cut-off values as a criterion for rotavirus species demarcation. **Arch Virol**, v. 157, p. 1177-82, 2011.

MCFARLANE, R.; SLEIGH, A.; MCMICHAEL, T. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian-Australasian region. **EcoHealth**, v. 9, p. 1, p. 24-35, 2012.

MEDEIROS, T.N.S.; LORENZETTI, E.; MASSI, R.P.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Diarreia neonatal e infecção por rotavírus A em bezerros de corte e leite, Brasil, 2006-2015. **Pesq. Vet. Bras**, v. 40, n. 1, p. 7-11, 2020.

MÉDICI KC, BARRY AF, ALFIERI AF, ALFIERI, A.A. Porcine rotavirus groups A, B, and C identified by polymerase chain reaction in a fecal sample collection with inconclusive results by polyacrylamide gel electrophoresis. **J Swine Health Prod**, v. 19, n. 3, p. 146-150, 2011.

MEERBURG, B.G.; SINGLETON, G.R.; KIJLSTRA, A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. **Crit Rev Microbiol**, v. 35, n. 3), p. 221-70, 2009.

MEESTER, M.; TOBIAS, T.J.; BOUWKNEGT, M.; KUSTERS, N.E.; STEGEMAN, J.A.; van der POEL, W.H.M. Infection dynamics and persistence of hepatitis E virus on pig farms - a review. **Porcine Health Manag**, v. 5, n. 7, e. 1, p. 16, 2021.

MENG, X.J.; PURCELL, R.H.; HALBUR, P.G.; LEHMAN, J.R.; WEBB, D.M.; TSAREVA, T.S.; HAYNES, J.S.; THACKER, B.J.; EMERSON, S.U. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 94, p. 9860-9865, 1997.

MIOT, E.F.; WORTHINGTON, B.M.; NG, K.; de LATAILLADE, L.G.; PIERCE, M.P.; LIAO, Y.; KO, R.; SHUM, M.H.; CHEUNG, W.Y.; HOLMES, E.C.; LEUNG, K.S.; ZHU, H.; POON, L.L.; PEIRIS, M.J.; GUAN, Y.; LEUNG, G.M.; WU, J.T.; LAM, T.T. Surveillance of Rodent Pests for SARS-CoV-2 and Other Coronaviruses, Hong Kong. **Emerg Infect Dis**, v. 28, n. 2, p. 467-470, 2022.

MOLINARI, B.L.D.; POSSATTIA, F.; LORENZETTI, E.; ALFIERI, A.F.; ALFIERI, A.A. Unusual outbreak of post-weaning porcine diarrhea caused by single and mixed infections of rotavirus groups A, B, C, and H. **Vet Microbiol**, v. 193, p. 125-32, 2016.

MONASTIRI, A.; MARTÍN-CARRILLO, N.; FORONDA, P.; IZQUIERDO-RODRÍGUEZ, E.; FELIU, C.; LÓPEZ-ROIG, M.; MIQUEL, J.; AR GOUILH, M.;

SERRA-COBO, J. First Coronavirus Active Survey in Rodents From the Canary Islands. **Front. Vet. Sci.**, v. 18, n. 8, p.708079, 2021.

MONTAGUTELLI, X.; PROT, M.; LEVILLAYER, L.; SALAZAR, E.B.; JOUVION, G.; CONQUET, L.; DONATI, F.; ALBERT, M.; GAMBARO, F.; BEHILLIL, S.; ENOUF, V.; ROUSSET, D.; JAUBERT, J.; REY, F.; van der WERF, S.; SIMON-LORIERE, E. The B1.351 and P.1 variants extend SARS-CoV-2 host range to mice. **bioRxiv**, v. 2, p.10-16, 2021.

MOORE, J.A. Proceedings - Contribute papers. XVI **Internacional Congress of Zoology**. 261, 1963.

MORAES, D.F.D.S.D.; MESQUITA, J.R.; DUTRA, V.; NASCIMENTO, M.S.J. Systematic Review of Hepatitis E Virus in Brazil: A One-Health Approach of the Human-Animal-Environment Triad. **Animals (Basel)**, v. 3, n. 11, e. 8, p. 2290, 2021.

MOREIRA-SOTO, A.; TAYLOR-CASTILLO, L.; VARGAS-VARGAS, N.; RODRÍGUEZ-HERRERA, B.; JIMÉNEZ, C.; CORRALES-AGUILAR, E. Neotropical Bats from Costa Rica harbour Diverse Coronaviruses. **Zoonoses Public Health**, v. 62, n. 7, p. 501-5, 2015.

MUNSTER, V.J.; ADNEY, D.R.; VAN DOREMALEN, N.; BROWN, V.R.; MIAZGOWICZ, K.L.; MILNE-PRICE, S.; BUSHMAKER, T.; ROSENKE, R.; SCOTT, D.; HAWKINSON, A.; DE WIT, E.; SCHOUNTZ, T.; BOWEN, R.A. Replication and shedding of MERS-CoV in Jamaican fruit bats (*Artibeus jamaicensis*). **Sci. Rep**, v. 6, p. 1-10, 2016.

MUYANGWA, M.; MARTYNOVA, E.V.; KHAIBOULLINA, S.F.; Morzunov, S.P.; Rizvanov, A.A. Hantaviral proteins: structure, functions, and role in Hantavirus infection. **Front Microbiol**, v. 6, p. 1326, 2015.

NAIK, S.R.; AGGARWAL, R.; SALUNKE, P.N.; MEHROTRA, N.N. A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur. **India Bull World Health Organ**, v. 70, n. 5, p. 597-604, 1992.

NAKATA, S.; ESTES, M.K.; GRAHAM, D.Y.; LOOSLE, R.; TAO, H.; WANG, S.H.; SAIF, L.J.; MELNICK, J.L. Antigenic characterization and ELISA detection of adult diarrhea rotaviruses. **J Infect Dis**, v. 154, n. 3, p. 448-55, 1986.

NAVAS-MARTIN, S.; WEISS, S.R. SARS: Lessons learned from other Coronaviruses. **Viral Immunol**, v. 16, p. 461-74, 2003.

NIENDORF, S.; EBNER, W.; MARQUES, A.M.; BIERBAUM, S.; BABIKIR, R.; HUZLY, D.; MAAßEN, S.; GRUNDMANN, H.; PANNING, M. Rotavirus outbreak among adults in a university hospital in Germany. **Journal of Clinical Virology**, v. 129, p.104532, 2020.

OBERSTE, M.S.; FEEROZ, M.M.; MAHER, K.; NIX, W.A.; ENGEL, G.A.; HASAN, K.M.; BEGUM, S.; OH, G.; CHOWDHURY, A.H.; PALLANSCH, M.A.; JONES-ENGEL, L. Characterizing the Picornavirus Landscape among Synanthropic Nonhuman Primates in Bangladesh, 2007 to 2008. **J Virol**, v. 87, n. 1, p. 558-71, 2013.

OLIVEIRA, J.S.; FIGUEIREDO, P.O.; COSTA, G.B.; ASSIS, F.L.; DRUMOND, B.P.; DA FONSECA, F.G.; NOGUEIRA, M.L.; KROON, E.G.; TRINDADE, G.S. Vaccinia

Virus Natural Infections in Brazil: The Good, the Bad, and the Ugly. **Viruses**, v. 9, p. 340, 2017.

OLIVEIRA, R.C.; GUTERRES, A.; FERNANDES, J.; D'ANDREA, P.S.; BONVICINO, C.R.; de LEMOS, E.R. Hantavirus reservoirs: current status with an emphasis on data from Brazil. **Viruses**, v. 6, p. 1929-73, 2014.

OLSSON, G.E.; DALERUM, F.; HÖRNFELDT, B.; PALO, T.R.; JUTO, P.; AHLM, C. Human hantavirus infections, Sweden. **Emerg Infect Dis**, v. 9, n.11, p. 1395-401, 2003.

ONO, E.A.D.; TANIWAKI, A.S.; BRANDÃO, P.E. Short interfering RNAs targeting a vampire-bat related rabies virus phosphoprotein mRNA. **Braz. J. Microbiol**, v.48, n.3, 2017.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Folha informativa sobre COVID-19**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19>>. Acesso em 12 de junho de 2022.

OTENIO MH, CRUZ GCA, MENDES GM, PANCHONI, L.C. Rodent control in a sanitary sewage system: A case-study for small towns. **Fresenius Environmental Bulletin**, v. 19, n. 11, p. 2576-2581, 2010.

OYEDELE, D.T.; SAH, S.A.; KAIRUDDINAND, L.; Wan IBRAHIM, W.M. Range Measurement and a Habitat Suitability Map for the Norway Rat in a Highly Developed Urban Environment. **Trop Life Sci Res**, v. 26, n. 2, p. 27-44, 2015.

PAI, R.K.; BHARADWAJ, M.; LEVY, H.; OVERTURF, G.; GOADE, D.; WORTMAN, I.A.; NOFCHISSEY, R.; HJELLE, B. Absence of infection of a neonate after possible exposure to Sin Nombre hantavirus in breast milk. **Clin Infect Dis**, v. 29, p. 1577-1579, 1999.

PAIVA, H.H.; TZANEVA, V.; HADDAD, R.; YOKOSAWA, J. Molecular characterization of swine hepatitis E virus from Southeastern Brazil. **Braz J Microbiol**, v. 38, p. 693-698, 2007.

PANG, L.; ALENCAR, F.E.; CERUTTI, C. Jr.; MILHOUS, W.K.; ANDRADE, A.L.; OLIVEIRA, R.; KANESA-THASAN, N.; MACARTHY, P.O.; HOKE, C.H. Jr. Short report: Hepatitis E infection in the Brazilian Amazon. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v. 52, p. 347-348, 1995.

PANTI-MAY, J.A.; CARVALHO-PEREIRA, T.S.A.; SERRANO, S.; PEDRA, G.G.; TAYLOR, J.; PERTILE, A.C.; MINTER, A.; AIRAM, V.; CARVALHO, M.; JÚNIOR, N.N.; RODRIGUES, G.; REIS, M.G.; KO, A.I.; CHILDS, J.E.; BEGON, M.; COSTA, F. A Two-Year Ecological Study of Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in a Brazilian Urban Slum. **PLoS ONE**, v. 11, n. 3, p. e0152511, 2016.

PARRA, G.I.; VIDALES, G.; GOMEZ, J.A.; FERNANDEZ, F.M.; PARREÑO, V.; BOK, K. Phylogenetic analysis of porcine rotavirus in Argentina: increasing diversity of G4 strains and evidence of interspecies transmission. **Vet Microbiol**, v. 1, n. 126, e. 1-3, p. 243-50, 2008.

PASSOS-CASTILHO, A.M.; DE SENA, A.; REINALDO, M.R.; GRANATO, C.F.H. Hepatitis E virus infection in Brazil: results of laboratory-based surveillance from 1998 to 2013. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 48, n.4, 2015.

PASSOS-CASTILHO, A.M.; GRANATO, C.F.H. High frequency of hepatitis E virus infection in swine from South Brazil and close similarity to human HEV isolates. **Braz. J. Microbiol.**, v. 48, n. 2, 2017.

PERES, F. Saúde, trabalho e ambiente no meio rural brasileiro. *Ciência. Saúde Coletiva*, v. 14, n. 6, 2009.

PERLMAN, S.; NETLAND, J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. **Nat Rev Microbiol**, v. 7, n. 6, p. 439-50, 2009.

PLYUSNIN, A.; VAPALAHTI, O.; VAHERI, A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. **J Gen Virol**, v. 77, p. 2677-87, 1996.

QIAN, Z.; HAO, X.; XIA, Y.; YU, W.; HUANG, F. Rat Hepatitis E virus is a potential zoonotic pathogen to humans. **Journal of Hepatology**, v.7, n. 1-3, p. 868-870, 2022.

RABIEE, M.H.; MAHMOUDI, A.; SIAHSARVIE, R.; KRYŠTUFEK, B.; MOSTAFAVI, E. Rodent-borne diseases and their public health importance in Iran. **Plos Negl. Trop. Dis**, v. 12, n. 4, p. e0006256, 2018.

RABONI, S.M.; RUBIO, G.; DE BORBA, L.; ZEFERINO, A.; SKRABA, I.; GOLDENBERG, S.; DOS SANTOS, C.N. Clinical survey of hantavirus in southern Brazil and the development of specific molecular diagnosis tools. **Am J Trop Med Hyg**, v. 72, n. 6, p. 800-4, 2005.

RAMSDEN, C.; HOLMES, E.C.; CHARLESTON, M.A. Hantavirus evolution in relation to its rodent and insectivore hosts: no evidence for codivergence. **Mol. Biol. Evol.**, v. 26, p.143-153, 2009.

RAMSDEN, C.; MELO, F.L.; FIGUEIREDO, L.M.; HOLMES, E.C.; ZANOTTO, P.M.; VGDN Consortium. High rates of molecular evolution in hantaviruses. **Mol. Biol. Evol.**, v. 25, p. 1488-1492, 2008.

REIL, D.; ROSENFELD, U.M.; IMHOLT, C.; SCHMIDT, S.; ULRICH, R.G.; ECCARD, J.A.; JACOB, J. Puumala hantavirus infections in bank vole populations: host and virus dynamics in Central Europe. **BMC Ecol.**, v. 17, n. 1, p. 9, 2017.

REIN, D.B.; STEVENS, G.A.; THEAKER, J.; WITTENBORN, J.S.; WIERSMA, S.T. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. **Hepatology**, v. 55, p. 988-997, 2012.

REIS, R.B.; RIBEIRO, G.S.; FELZEMBURGH, R.D.M. Impact of Environment and Social Gradient on Leptospira Infection in Urban Slums. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 2, n. 4, p. e228, 2008.

REUTER, G.; BOROS, Á.; PANKOVICS, P. Review of Hepatitis E Virus in Rats: Evident Risk of Species Orthohepevirus C to Human Zoonotic Infection and Disease. **Viruses**, v. 9, n. 12, e. 10, p. 1148, 2020.

RIGO-ADROVER, M.D.M.; KNIPPING, K.; GARSSSEN, J.; van LIMPT, K.; KNOL, J.; FRANCH, À.; CASTELL, M.; RODRÍGUEZ-LAGUNAS, M.J.; PÉREZ-CANO, F.J. Prevention of Rotavirus Diarrhea in Suckling Rats by a Specific Fermented Milk Concentrate with Prebiotic Mixture. **Nutrients.**, v. 11, n. 1, p. pii:E189, 2019.

RIVERO-JUAREZ, A.; FRIAS, M.; PEREZ, A.B.; PINEDA, J.A.; REINA, G.; FUENTES-LOPEZ, A.; FREYRE-CARRILLO, C.; RAMIREZ-ARELLANO, E.; ALADOS, J.C.; RIVERO, A.; HEPAVIR and GEHEP-014 Study Groups. Orthohepevirus C infection as an emerging cause of acute hepatitis in Spain: first report in Europe. **J Hepatol**, v. 77, n. 2, p. 326-331, 2022.

ROCHA, R.; LÓPEZ-BAUCELLS, A.; FERNÁNDEZ-LLAMAZARES, A. Ethnobiology of Bats: Exploring Human-Bat Inter-Relationships in a Rapidly Changing World. **Journal of Ethnobiology**, v. 41, n. 1, p. 3-17, 2021.

ROCHA, T.G.; SILVA, F.D.F.; GREGORI, F.; ALFIERI, A.A.; BUZINARO, M.D.; FAGLIARI, J.J. Longitudinal study of bovine rotavirus group A in newborn calves from vaccinated and unvaccinated dairy herds. **Trop Anim Health Prod**, v. 49, n. 4, p. 783-90, 2017.

ROMERO, O.C.; STRAUB, A.P.; KOHN, T.; NGUYEN, T.H. Role of Temperature and Suwannee River Natural Organic Matter on Inactivation Kinetics of Rotavirus and Bacteriophage MS2 by Solar Irradiation. **Environ. Sci. Technol.**, v. 45, n. 24, p. 10385-10393, 2011.

RUIZ-ARAVENA, M.; MCKEE, C.; PLOWRIGHT, R.K. Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, p. 299-314, 2022.

RULLI, M.C.; D'ODORICO, P.; GALLI, N.; HAYMAN, D.T.S. Land-use change and the livestock revolution increase the risk of zoonotic coronavirus transmission from rhinolophid bats. **Nat. Food**, v. 2, p. 409-416 2021

SACHSENRODER, J.; BRAUN, A.; MACHNOWSKA, P.; NG, T.F.F.; DENG, X.; GUENTHER, S.; BERNSTEIN, S.; ULRICH, R.G.; DELWART, E.; JOHNE, R. Metagenomic identification of novel enteric viruses in urban wild rats and genome characterization of a group A rotavirus. **J Gen Virol.**, v. 95, n. 12, p. 2734-47, 2014.

SAEZ, A.M.; HAIDARA, M.C.; CAMARA, A.; KOUROUMA, F.; SAGE, M.; MAGASSOUBA, N.; FICHET-CALVET, E. Rodent control to fight Lassa fever: Evaluation and lessons learned from a 4-year study in Upper Guinea. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 12, n. 11, p. e0006829, 2018.

SALEM, A.N.B.; SERGEI, A.C.; OLGA, P.B.; OLGA, G.A.; MAHJOUR, A.; LARISSA, B. P. Multiplex nested RT-PCR for the detection of porcine enteric viruses. **J Virol Methods.**, v. 165, n. 2, p. 283-93, 2010.

SALIM, A.F.; PHILLIPS, A.D.; WALKER-SMITH, J.A.; FARTHING, M.J. Sequential changes in small intestinal structure and function during rotavirus infection in neonatal rats. **Gut.**, v. 36, n. 2, p. 231-8, 1995.

SANEKATA, T.; KUWAMOTO, Y.; AKAMATSU, S.; SAKON, N.; OSETO, M.; TANIGUCHI, K.; NAKATA, S.; ESTES, M.K. Isolation of group B porcine rotavirus in cell culture. **J Clin Microbiol**, v. 34, n. 3, p. 759-61, 1996.

SANTOS, D.C.; SOUTO, F.J.; LOPES DOS SANTOS, D.R.; VITRAL, C.L.; GASPARI, A.M.C. Seroepidemiological markers of enterically transmitted viral hepatitis A and E in individuals living in a community located in the North Area of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 97, p. 637-640, 2002.

SANTOS, I.O.; FIGUEIRDO, G.G.; FIGUEIREDO, L.T.; AZEVEDO, M.R.; NOVO, N.F.; VAZ, C.A. Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern State of Mato Grosso, Brazil. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.46. n. 1, p. 30-3, 2013.

São Paulo. **Cidade de SP registra 6,3 mil denúncias de infestações de ratos em 2020.**, 2020. Disponível em: <<https://g1.globo.com/sp/sao-paulo/noticia/2021/02/24/cidade-de-sp-registra-63-mil-denuncias-de-infestacoes-de-ratos-em-2020.ghtml>>. Acesso em 10 de junho de 2022.

São Paulo. **Portaria nº 09 de 16 de novembro de 2000.** Norma técnica para empresas prestadoras de serviço em controle de vetores e pragas urbanas. Disponível em: <http://www.pragas.com.br/conteudos/profissional/legislacao/images/port_CVS-09.pdf>. Acesso em 09 de junho de 2022.

SEN, A.; KOBAYASHI, N.; DAS, S.; KRISHNAN, T.; BHATTACHARYA, S.K.; NAIK, T.N. The evolution of human group B rotaviruses. **The Lancet**. v. 357, p. 198-9, 2001.

SHEPHERD, F.K.; HERRERA-IBATA, D.M.; PORTER, E.; HOMWONG, N.; HESSE, R.; BAI, J.; MARTHALER, D.G. Whole Genome Classification and Phylogenetic Analyses of Rotavirus B strains from the United States. **Pathogens**, v. 18, n. 7, e. 2, p. 44, 2018.

SILVA, E.A.; TSUYAKO, Y.O.; MATSUO, M. Controle de roedores no Vale do Rio Aricanduva. **Boletim Informativo Controle de Zoonoses Urbanas**. v. 15, p. 25-35, 1992.

SILVA, F.D.F.; GREGORI, F.; McDONALD, S.M. Distinguishing the genotype 1 genes and proteins of human Wa-like rotaviruses vs. porcine rotaviruses. **Infect Genet Evolut.**, v. 43, p. 6-14, 2016.

SILVA, J.B. Discutindo o rural e o urbano. **Revista da ANPEGE**, v. 7, n. 8, p. 3-11, 2011.

SILVA, M.V.; VASCONCELOS, M.J.; HIDALGO, N.T.R.; VEIGA, N.T.R.; CANZIAN, M.; MAROTTO, P.C.F.; LIMA, V.C.P. Hantavirus pulmonary syndrome: Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. **Rev Inst Med Trop S Paulo.**, v. 39, p. 231-4, 1997.

SIMMONS, N.B.; CIRRANELLO, A.L. **Bat Species of the World: A Taxonomic and Geographic**. 2021. Database [web page]. URL: <https://batnames.org/>. Acesso em 31 de Maio de 2022.

SIMSEK, C.; CORMAN, V.M.; EVERLING, H.U.; LUKASHEV, A.N.; RASCHE, A.; MAGANGA, G.D.; BINGER, T.; JANSEN, D.; BELLER, L.; DEBOUTTE, W.; GLOZARAUSCH, F.; SEEBENS-HOYER, A.; YORDANOV, S.; SYLVERKEN, A.; OPPONG, S.; SARKODIE, Y.A.; VALLO, P.; LEROY, E.M.; BOURGAREL, M.; YINDA, K.C.; VAN RANST, M.; DROSTEN, C.; DREXLER, J.F.; MATTHIJNSSENS, J. At Least Seven Distinct Rotavirus Genotype Constellations in Bats with Evidence of Reassortment and Zoonotic Transmissions. **mBio.**, v. 12, n. 1, p.e02755-20, 2021.

SOARES VM, DOS SANTOS EAR, TADIELO LE, CERQUEIRA-CÉZAR, C.K.; SAMPAIO, A.N.C.E.; EISEN, A.K.A.; OLIVEIRA, K.G.; PADILHA, M. B.; GUERRA, M.E.M.; GASPARETTO, R.; BRUM, M.C.S.; TRAESEL, C.K.; SPILKI, F.R.; PEREIRA,

J.G. Detection of adenovirus, rotavirus, and hepatitis E virus in meat cuts marketed in Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brazil. **One Health.**, v. 1, n.14, p.100377, 2022.

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. 1, n. 385, e. 1, p. 58-67, 2009.

SOLIMAN, K.M.; EMAM, W.W. **Bats and Ecosystem Management.** In: Mikkola, H. , editor. *Bats - Disease-Prone but Beneficial* [Internet]. London: IntechOpen; 2022 [cited 2022 Jun 23]. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/79802> doi: 10.5772/intechopen.101600

SOUTO, F.J.; FONTES, C.J.; PARANA, R.; LYRA, L.G. Short report: Further evidence for hepatitis E in the Brazilian Amazon. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 57, n. 2, p. 149-150, 1997.

SOUZA, W.M.; ROMEIRO, M.F.; SABINO-SANTOS, G. Jr.; MAIA, F.G.M.; FUMAGALLI, M.J.; MODHA, S.; NUNES, M.R.T.; MURCIA, P.R.; FIGUEIREDO, L.T.M. Novel orthohepeviruses in wild rodents from São Paulo State, Brazil. **Virology.** v. 519, p.12-16, 2018.

SPIROPOULOU, C.F.; ALBARINO, C.G.; KSIAZEK, T.G.; ROLLIN, P.E. Andes and Prospect Hill hantaviruses differ in early induction of interferon although both can downregulate interferon signaling. **J Virol.**, v. 81, p. 2769-76, 2007.

SRIDHAR, S.; YIP, C.C.Y.; WU, S.; CAI, J.; ZHANG, A.J.; LEUNG, K.H.; CHUNG, T.W.H.; CHAN, J.F.W.; CHAN, W.M.; TENG, J.L.L.; AU-YEUNG, R.K.H.; CHENG, V.C.C.; CHEN, H.; LAU, S.K.P.; WOO, P.C.Y.; XIA, N.S.; LO, C.M.; YUEN, K.Y. Rat hepatitis E virus as cause of persistent hepatitis after liver transplant. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 24, p. 2241-2250, 2018.

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

SUZUKI, T.; SOMA, J.; MIYAZAKI, A.; TSUNEMITSU, H. Phylogenetic analysis of nonstructural protein 5 (NSP5) gene sequences in porcine rotavirus B strains. **Infect Genet Evol.**, v. 12, n. 8, p. 1661-8, 2012.

TAKAHASHI, M.; KUNITA, S.; KAWAKAMI, M.; KADOSAKA, T.; FUJITA, H.; TAKADA, N.; MIYAKE, M.; KOBAYASHI, T.; OHNISHI, H.; NAGASHIMA, S.; MURATA, K.; OKAMOTO, H. First detection and characterization of rat hepatitis E Virus (HEV-C1) in Japan. **Virus Res.** v.314, p.198766, 2022.

TEMMAM, S.; VONGPHAYLOTH, K.; BAQUERO, E.; MUNIER, S.; BONOMI, M.; REGNAULT, B.; DOUANGBOUBPHA, B.; KARAMI, Y.; CHRÉTIEN, D.; SANAMXAY, D.; XAYAPHET, V.; PAPHAPHANH, P.; LACOSTE, V.; SOMLOR, S.; LAKEOMANY, K.; PHOMMAVANH, N.; PÉROT, P.; DEHAN, O.; AMARA, F.; DONATI, F.; BIGOT, T.; NILGES, M.; REY, F.A.; van der WERF, S.; ELOIT, M. Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. **Nature**, v. 604, p. 330-336, 2022.

TENGAN, F.M.; FIGUEIREDO, G.M.; NUNES, A.K.S.; MANCHIERO, C.; DANTAS, B.P.; MAGRI, M.C.; PRATA, T.V.G.; NASCIMENTO, M.; MAZZA, C.C.; ABDALA, E.;

BARONE, A.A.; BERNARDO, W.M. Seroprevalence of hepatitis E in adults in Brazil: a systematic review and meta-analysis. **Infect Dis Poverty**, v. 16, n. 8, e. 1, p.3, 2019.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J.; CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**. 1994.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research**, v. 24, p. 4876-4882, 1997.

TIAN, J.; SUN, J.; LI, D.; WANG, N.; WANG, L.; ZHANG, C.; MENG, X.; JI, X.; SUCHARD, M.A.; ZHANG, X.; LAI, A.; SU, S.; VEIT, M. Emerging viruses: Cross-species transmission of coronaviruses, filoviruses, henipaviruses, and rotaviruses from bats. **Cell Rep**. v. 14, n. 39, e. 11, p.110969, 2022.

TOLEDO, J.; HABY, M.M.; REVEIZ, L.; SOSA LEON, L.; ANGERAMI, R.; ALDIGHIERI, S. Evidence for human-to-human transmission of hantavirus: a systematic review. **J Infect Dis**. v. 226, n. 8, p.1362-1371, 2021.

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. **Emerg. Infect. Dis**. v. 15, p. 482-485, 2009.

TONIETTI, P.O.; DAHORA, A.S.; SILVA, F.D.F.; FERRARI, K.L.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; GREGORI, F. Simultaneous Detection of Group A Rotavirus in Swine and Rat on a Pig Farm in Brazil. **ScientificWorldJournal**., p. 648406, 2013.

TORRES-CASTRO, M.A. Synanthropic rodents, threat to health? **Rev. biomédica** [online]. 2017, vol.28, n.3, pp.183-190. ISSN 2007-8447.

TROEGER, C.; KHALIL, I.A.; RAO, P.C.; CAO, S.; BLACKER, B.F.; AHMED, T.; ARMAH, G.; BINES, J.E.; BREWER, T.G.; COLOMBARA, D.V.; KANG, G.; KIRKPATRICK, B.D.; KIRKWOOD, C.D.; MWENDA, J.M.; PARASHAR, U.D.; PETRI, W.A. JR.; RIDDLE, M.S.; STEELE, A.D.; THOMPSON, R.L.; WALSON, J.L.; SANDERS, J.W.; MOKDAD, A.H.; MURRAY, C.J.L.; HAY, S.I.; REINER, R.C. JR. Rotavirus Vaccination and the Global Burden of Rotavirus Diarrhea Among Children Younger Than 5 Years. **JAMA Pediatr**., v. 172, n. 10, p. 958-965, 2018.

TSAREV, S.A.; SHRESTHA, M.P.; HE, J. Naturally acquired hepatitis E virus (HEV) infection in Nepalese rodents. **Am J Trop Med Hyg**, v. 59, p. 242, 1998.

TSOLERIDIS, T.; BALL, J.K. Discovery of Novel Coronaviruses in Rodents. **Methods Mol Biol**., v. 2203, p.33-40, 2020.

TSOLERIDIS, T.; CHAPPELL, J.G.; ONIANWA, O.; MARSTON, D.A.; FOOKS, A.R.; MONCHATRE-LEROY, E.; UMHANG, G.; MÜLLER, M.A.; DREXLER, J.F.; DROSTEN, C.; TARLINTON, R.E.; MCCLURE, C.P.; HOLMES, E.C.; BALL, J.K. Shared Common Ancestry of Rodent Alphacoronaviruses Sampled Globally. **Viruses**., v. 30, n. 11, e. 2, p. 125, 2019.

TSOLERIDIS, T.; ONIANWA, O.; HORNCastle, E.; DAYMAN, E.; ZHU, M.; DANJITTRONG, T.; WACHTL, M.; BEHNKE, J.M.; CHAPMAN, S.; STRONG, V.;

DOBBS, P.; BALL, J.K.; TARLINTON, R.E.; McCLURE, C.P. Discovery of Novel Alphacoronaviruses in European Rodents and Shrews. **Viruses**. v. 8, p. 84, 2016.

VADELL, M.V.; VILLAFANE, I.E.G. Environmental Variables Associated with Hantavirus Reservoirs and Other Small Rodent Species in Two National Parks in the Paraná Delta, Argentina: Implications for Disease Prevention. **EcoHealth**. v. 13, p. 248-60, 2016.

VALDIVIESO, F.; GONZALEZ, C.; NAJERA, M.; OLEA, A.; CUIZA, A.; AGUILERA, X.; MERTZ, G. Knowledge, attitudes, and practices regarding hantavirus disease and acceptance of a vaccine trial in rural communities of southern Chile. **Hum Vaccin Immunother**. v. 13, n. 4, p. 808-15, 2017.

VILLARREAL, L.Y.B.; ULIANA, G.; VALENZUELA, C.; CHACÓN, J.L.V.; SAIDENBERG, A.B.S.; SANCHES, A.A.; BRANDÃO, P.E.; JEREZ, J.A.; FERREIRA, A.J.P. Rotavirus detection and isolation from chickens with or without symptoms. **Braz. J. Poult. Sci.**, v. 8, n. 3, 2006

VISWANATHAN, R. Infectious hepatitis in Delhi (1955-56): a critical study-epidemiology. **Indian J Med Res**. v. 45, n. 1, p. 1-29, 1957.

VITRAL, C.L.; PINTO, M.A.; LEWIS-XIMENEZ, L.L.L.; KHUDYADOV, Y.E.; *et al.* Serological evidence of hepatitis E virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, 100: 117-122, 2005.

VIZOTTO, L.D.; TADDEI, V.A. Chave para determinação de quirópteros brasileiros. **Boletim de Ciências, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras**, v. 1, p. 1-72, 1973.

VLASOVA, A.N.; AMIMO, J.O.; SAIF, L.J. Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies. **Viruses**., v. 9, p. 48, 2017.

VON ZUBEN, A.P.B. **Manual de Controle Integrado de Pragas**. Secretaria Municipal de Saúde de Campinas-SP. Prefeitura Municipal de Campinas-SP. Disponível em <<https://www.campinas.sp.gov.br/sa/impessos/adm/FO086.pdf>>. Acesso em 10 de junho de 2022.

VONDERFECHT, S.L.; LINDSAY, D.A.; EIDEN, J.J. Detection of rat, porcine, and bovine group B rotavirus in fecal specimens by solid-phase enzyme immunoassay. **J Clin Microbiol.**, v. 32, n. 4, p.1107-8, 1994.

WAKUDA, M.; IDE, T.; SASAKI, J.; KOMOTO, S.; ISHII, J.; SANEKATA, T.; TANIGUCHI, K. Porcine rotavirus closely related to novel group of human rotaviruses. **Emerg Infect Dis.**, v. 17, n. 8, p. 1491-3, 2011.

WANG H, YOSHIMATSU K, EBIHARA, H.; OGINO, M.; ARAKI, K.; KARIWA, H.; WANG, Z.; LUO, Z.; LI, D.; HANG, C.; ARIKAWA, J. Genetic diversity of hantaviruses isolated from *Niviventer confucianus* and *Rattus rattus*. **Virology**. v. 278, n. 2, p. 332-45, 2000.

WANG, W.; LIN, X.D.; GUO, W.P.; ZHOU, R.H.; WANG, M.R.; WANG, C.Q.; GE, S.; MEI, S.H.; LI, M.H.; SHI, M.; HOLMES, E.C.; ZHANG, Y.Z. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. **Viol.** v. 474, p. 19-27, 2015.

WANG, Y.; LING, R.; ERKER, J.C.; ZHANG, H.; LI, H.; DESAI, S.; MUSHAHWAR, I.K.; HARRISON, T.J. A divergent genotype of hepatitis E virus in Chinese patients with acute hepatitis. **Journal of General Virology**, v. 80, p. 169-177, 1999.

WANG, B.; YANG, X-L. Chirohepevirus from Bats: Insights into Hepatitis E Virus Diversity and Evolution. **Viruses**, v. 14, p. 905, 2022

WASBERG, A.; RAGHWANI, J.; LI, J.; PETTERSSON, J.H.; LINDAHL, J.F.; LUNDKVIST, Å.; LING, J. Discovery of a Novel Coronavirus in Swedish Bank Voles (*Myodes glareolus*). **Viruses**, v. 14, n. 6, p. 1205, 2022.

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. **Emerg Infect Dis.** v. 16, n. 8, p. 1217-23, 2010.

WELLS, R.M.; SOSA, E.S.; YADON, Z.E.; YADON, Z.E.; ENRIA, D.; PADULA, P.; PINI, N.; MILLS, J.N.; PETERS, C.J.; SEGURA, E.L. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? **Emerg Infect Dis.**, v. 3, n. 2, 171-4, 1997.

WENTWORTH DE, GILLIM-ROSS L, ESPINA N, BERNARD KA. Mice susceptible to SARS coronavirus. **Emerg Infect Dis.**, 10(7):1293-6, 2004.

WHO - World Health Organization. **Hepatitis E**, 2022. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-e>>. Acesso em 14 de junho de 2022.

WINIARCZYK, S.; PAUL, P.S.; MUMMIDI, S.; PANEK, R.; GRADZKI, Z. Survey of Porcine Rotavirus G and P Genotype in Poland and the United States Using RT-PCR. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 49, n. 8, p. 373-378, 2002.

WITKOWSKI, P.T.; BOURQUAIN, D.; BANKOV, K.; AUSTE, B.; DABROWSKI, P.W.; NITSCHKE, A.; KRÜGER, D.H.; SCHAADÉ, L. Infection of human airway epithelial cells by different subtypes of Dobrava-Belgrade virus reveals gene expression patterns corresponding to their virulence potential. **Virol.**, v. 493, p. 189-201, 2016.

WONG, D.C.; PURCELL, R.H.; SREENIVASAN, M.A.; PRASAD, S.R.; PAVRI, K.M. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-a, non-B hepatitis virus aetiology. **Lancet.**, v. 2, n. 8200, p. 876-879, 1980.

WOO, P.C.Y.; LAU, S.K.P.; TENG, J.L.L.; TSANG, A.K.; JOSEPH, M.; WONG, E.Y.; TANG, Y.; SIVAKUMAR, S.; XIE, J.; BAI, R.; WERNERY, R.; WERNERY, U.; YUEN, K.Y. New hepatitis E virus genotype in camels, the Middle East. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 20, p.1044-1048, 2014.

WOO, P.C.; 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 deltacoronavirus. **J Virol.**, v. 86, n. 7, p. 3995-4008, 2012.

WOO P.C.; 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. 20, n. 351, e. 1, p. 180-7, 2006.

WOO, P.C.Y.; LAU, S.K.P.; 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. **J Virol.**, v. 79, n. 2, p. 884-894, 2005.

WU, X.; CHEN, P.; LIN, H.; HAO, X.; LIANG, Z. Hepatitis E virus: Current epidemiology and vaccine. **Hum Vaccin Immunother.**, v. 12, n. 10, p. 2603-2610, 2016.

XIA, L.L.; HE, B.; HU, T.S.; ZHANG, W.D.; WANG, Y.Y.; XU, L.; LI, N.; QIU, W.; YU, J.; FAN, Q.S.; ZHANG, F.Q.; TU, C.C. Isolation and characterization of rotavirus from bat. **Chinese Journal of Virology**, v. 29, n. 6, p. 632-637, 2013.

YANAGIHARA, R.; GOLDGABER, D.; GAJDUSEK, D.C. Propagation of nephropathia epidemica virus in *Mongolian gerbils*. **J Virol.**, v. 55, n. 3, p. 973-75, 1985.

YODMEEKLIN, A.; KHAMRIN, P.; CHUCHAONA, W.; KUMTHIP, K.; KONGKAEW, A.; VACHIRACHEWIN, R.; OKITSU, S.; USHIJIMA, H.; MANEEKARN, N. Analysis of complete genome sequences of G9P[19] rotavirus strains from human and piglet with diarrhea provides evidence for whole-genome interspecies transmission of nonreassorted porcine rotavirus. **Infect Genet Evol.**, v. 47, p. 99-108, 2017.

YU, X-J.; TESH, R.B. The role of mites in the transmission and maintenance of Hantaan Virus (Hantavirus: *Bunyaviridae*). **J Infect Dis.** v, 210, n. 11, 1693-9, 2014.

ZHOU, P.; YANG, X.L.; WANG, X.G.; Hu, B.; Zhang, L.; Zhang, W.; Si, H.R.; Zhu, Y.; Li, B.; Huang, C.L.; Chen, H.D.; Chen, J.; Luo, Y.; Guo, H.; Jiang, R.D.; Liu, M.Q.; Chen, Y.; Shen, X.R.; Wang, X.; Zheng, X.S.; Zhao, K.; Chen, Q.J.; Deng, F.; Liu, L.L.; Yan, B.; Zhan, F.X.; Wang, Y.Y.; Xiao, G.F.; Shi, Z.L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, p. 270-273, 2020.

ZHOU, P.; FAN, H.; LAN, T.; YANG, X.L.; SHI, W.F.; ZHANG, W.; ZHU, Y.; ZHANG, Y.W.; XIE, Q.M.; MANI, S.; ZHENG, X.S.; LI, B.; LI, J.M.; GUO, H.; PEI, G.Q.; AN, X.P.; CHEN, J.W.; ZHOU, L.; MAI, K.J.; WU, Z.X.; LI, D.; ANDERSON, D.E.; ZHANG, L.B.; LI, S.Y.; MA, J.Y. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. **Nature**, v. 556, p. 255-258, 2018.

ZUO, S.Q.; FANG, L.Q.; ZHAN, L.; ZHANG, P.H.; JIANG, J.F.; WANG, L.P.; MA, J.Q.; WANG, B.C.; WANG, R.M.; WU, X.M.; YANG, H.; CAO, Z.W.; CAO, W.C. Geo-spatial hotspots of hemorrhagic fever with renal syndrome and genetic characterization of Seoul Variants in Beijing, China. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 5, n. 1, p. e945, 2011.

Apêndice A – Artigo publicado na Revista de Medicina Tropical

Review Article

Synanthropic rodents as virus reservoirs and transmitters

Mara Lucia Gravinatti^[1], Carla Meneguim Barbosa^[2],
Rodrigo Martins Soares^[1] and Fábio Gregori^[1]

[1]. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

[2]. Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil.

Abstract

This review focuses on reports of hepatitis E virus, hantavirus, rotavirus, coronavirus, and arenavirus in synanthropic rodents (*Rattus rattus*, *Rattus norvegicus*, and *Mus musculus*) within urban environments. Despite their potential impact on human health, relatively few studies have addressed the monitoring of these viruses in rodents. Comprehensive control and preventive activities should include actions such as the elimination or reduction of rat and mouse populations, sanitary education, reduction of shelters for the animals, and restriction of the access of rodents to residences, water, and food supplies.

Keywords: Viruses. One health. Urban environment. Rat.

INTRODUCTION

Rodents (Order: Rodentia) are distributed on all continents except for Antarctica¹. Their heterogeneous and cosmopolitan distribution expands as their interaction with humans increases². Some species are better able to adapt to urban environments (synanthropism).

In a study conducted in Buenos Aires (Argentina), black rats (*Rattus rattus*) were found in residential and industrial areas, while house mice (*Mus musculus*) and brown rats (*Rattus norvegicus*) were captured in green areas and shantytowns³, where their presence was favored by easy access, availability of shelter, and large food supply⁴.

These animals are natural reservoirs of infectious diseases^{5,6}, and are involved in the emergence and dissemination of viruses, bacteria, and protozoa. The transmission of these agents can occur through both direct (bite, contact) and indirect (urine, feces) means, through vectors (ticks, fleas, and mites) that infest rodents, or when they are predated by other species^{1,7,8}.

Although little information is currently available on the size of the population of synanthropic rats, some indicators allow the

subjective estimation of their presence, such as the presence of excrement, marks on walls, trails on the ground, food sources, or the visual observation of rodents and/or the damage caused by them⁹⁻¹¹.

To evaluate the size of rodent populations, the concept of the 'minimum known number' is used¹², where individuals have to be captured and recaptured to estimate the infestation rate. This statistical formula can be simplified by multiplying the number of animals caught in a trap in a single catch by 100^{11,13}.

A survey carried out in 1529 dwellings in a low-income region of São Paulo (Brazil) showed an initial synanthropic rodent infestation rate of 40%, which was reduced to 14.4% after the implementation of sanitary education and pest control¹³. Similarly, in Pau de Lima (Bahia, Brazil), 62% of households (137/221) presented signs of active rodent infestations¹⁴.

Besides synanthropic species, other rodents can cocirculate in rural environments and wild and urban interface areas, where they contact other animals and people^{10,15}. Wild rodents are reservoirs for hantavirus, vaccinia virus, and *Lassa virus*, among others¹⁶⁻¹⁹.

Fernandes et al. (2019)²⁰ investigated rural settlements in Goiás (Brazil), and found 2.57% (n=12) positive rate for *Orthohantavirus*, equally distributed between women and men (n=6). In contrast, similar studies showed higher frequency in middle-aged men due to their risk behaviors^{21,22}.

Refugee camps accommodate large number of people and consequently there is accumulation of food and residues, attracting rodents (synanthropic and wild). In Africa, studies have revealed the circulation of *Mastomys natalensis* infected by *Lassa virus* in

Corresponding author: Mara Lucia Gravinatti

e-mail: maralgravinatti@gmail.com

☎ 0000-0003-0862-4873

Received 17 November 2019

Accepted 09 January 2020

these camps, which is facilitated by the dissemination routes of the virus (urine, fomites, consumption of rodents as food)²³. Bonner et al. (2007)²⁴ investigated communities of up to 9,000 people and determined that the quality of housing, external hygiene, and the visualization of rodent burrows were the main epidemiological factors associated with the spread of *Lassa virus*.

Aircrafts and ships may also contribute to the introduction of rodents and even dissemination of diseases in new areas^{25,26}. Consequently, the World Health Organization (WHO) has implemented rodent control measures at airports and ports, including periodic surveys to verify the absence of rodents onboard vessels. According to reports, 24.7% (270/1093) of moored ships at the port of Shanwei (China) were infested with rats²⁵. In Heilongjian, another Chinese port area, 4.47% of the 649 collected rats tested positive for hantavirus²⁷.

Therefore, this article aims to review important viral agents disseminated by synanthropic rodents (*M. musculus*, *R. rattus*, and *R. norvegicus*), and thereby contribute to a better understanding of disease epidemiology and prevention.

SEARCH STRATEGY AND SELECTION CRITERIA

Scientific texts in English and Portuguese were retrieved from the PubMed, Scopus, Web of Science, and Scielo research platforms using the search term “virus” in combination with “disease” and “rat or rodent or murine”. Additionally, a second more refined research was performed with the terms “Hepatitis E,” “Hantavirus,” “Rotavirus,” “Coronavirus,” or “Arenavirus” associated with “rat or rodent or murine.”

Among the resulting, studies mainly related to synanthropic rodents (*M. musculus*; *R. rattus*; *R. norvegicus*) collected in the field were selected, excluding the studies restricted to animal experimentation.

Thus, hepatitis E, hantavirus, rotavirus, coronavirus, and arenavirus are the focus of this review, as they are neglected diseases transmitted by rodents.

HEPATITIS E (HEV)

The hepatitis E virus (HEV) has a single-stranded RNA genome of approximately 7 kb length²⁸. As a member of the *Hepeviridae* family, the genus *Orthohepevirus* has four species (from *A* to *D*)²⁹, among which *Orthohepevirus A* and *C* have already been described in rodents³⁰.

Infection occurs via the fecal-oral route through the consumption of water contaminated with excrement or the consumption of raw/undercooked meat and the viscera of infected animals³¹. The prevalence rate in humans reaches 40% in industrialized countries, and the virus has been detected in blood banks³². Socially vulnerable people may be an important epidemiological group at risk, along with patients who depend on blood transfusions^{33,34}.

The virus shows tropism to digestive system and is eliminated in stool after 4 to 23 days of infection³⁵, remaining in this state for additional 5 weeks^{36,37}.

The symptoms are mainly nonspecific, and include fever, headaches, abdominal pain, but these infections may also be

asymptomatic (depending on the HEV dose to which the patient was exposed), hindering the detection, and potentiating the agent's spread³⁸⁻⁴⁰.

Mortality rates are higher among infected people presenting previous liver disease, immunocompromised patients, and pregnant women, as they present higher chances of renal failure leading to death^{33,41,42}.

The role of black rats (*R. rattus*) and brown rats (*R. norvegicus*) as reservoirs and transmitters of this viral agent and its prevalence rate remains unknown³⁰.

Orthohepevirus A has seven different genotypes (HEV1-7) defined by the concatenated amino acid distance between the open reading frames of ORF1 (nonstructural proteins) and ORF2 (capsid proteins)⁴³. HEV-1 and HEV-2 occur only in humans; HEV-3 has been isolated from humans and several animal species; HEV-4 has been isolated from humans and pigs; HEV-5 and HEV-6 have been identified only in wild boars; and HEV-7 has only been found in camels⁴⁴.

The presence of anti-HEV IgG^{30,45}, and the detection of viral particles in the feces of these rodents (with or without seroconversion) have been demonstrated^{37,46,47}. However, only a single study has shown similarities between rodent (*R. norvegicus*) strains with regard to the HEV-3 genotype, which is most closely related to the genotypes found in rabbits³⁷.

On the other hand, *rat* HEV (genotype C1), belonging to the *Orthohepevirus C* group, has been reported in *R. norvegicus* and *R. rattus*, although its potential to cause disease in humans is still questioned^{37,47}.

In Vietnam, animals captured at bus stations and hospitals have tested positive for *rat* HEV⁴⁸. These findings are supported by serological evidence from domestic animals and rodents in other studies^{45,49,50}.

Detection methods for HEV include serological (specific IgG), histopathological, and molecular (RT-PCR) techniques⁴¹. Commercially, there are no specific prophylactic measures available on the market, although Chinese researchers have developed the HEV p239 vaccine from the HEV1 genotype⁵¹. Its efficacy is considered high (> 90%), requiring three doses (0, 1 and 6 months), and it may be used even in pregnant women⁵².

HANTAVIRUS (HV)

Hantaviruses, belonging to the *Hantaviridae* family, are divided into four genera: *Loanvirus*, *Mobavirus*, *Thottimvirus*, and *Orthohantavirus*⁵³. These enveloped viruses have a negative-sense RNA genome segmented into three fragments: Large - L (6.8-12 kb), Middle - M (3.2-4.9 kb), and Small - S (1-3 kb). They encode four proteins; the L segment encodes viral polymerase, while the M and S segments encode the precursor (GPC) of two viral surface glycoproteins (G1 and G2, alternatively called Gn and Gc), and the nucleocapsid (N) protein, respectively⁵⁴.

More than 50 species of hantaviruses have been reported worldwide⁵⁵; however, some of them do not cause diseases, including the *Prospect Hill* virus⁵⁶. Rodents, bats, and moles are

reservoirs of these agents⁵⁷; transmission occurs through bites (saliva), and especially via the inhalation of viral particles from the feces and urine of these animals⁵⁸. Despite a report of transmission between humans, this form is rare⁵⁹.

The *Orthohantavirus* genus includes the greatest number of pathogenic species of public health importance⁶⁰. Its presence is associated with the geographic distribution of rodents (*Murinae*, *Avicolinae*, and *Sigmodontinae* families), which can harbor distinct forms of the disease.

The earliest reports of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), caused by viruses known as Old World hantaviruses (Europe and Asia), come from Chinese writings dating from 960 BC. Later, in the Korean War (1951-1954), these diseases caused the death of over 3,000 soldiers⁶¹. The *Hantaan* virus (HTNV) species was related to this outbreak. HTNV was isolated for the first time in 1978⁶² and was linked to the rodent *Apodemus agrarius*; the virus was detected in blood, urine, feces, and respiratory tract samples. In humans, this species causes a severe form of HFRS, which has thus far been restricted to rural areas of China, Korea, and Russia^{63,64}.

Dobrava virus (DOBV) is also associated with HFRS syndrome, for which men are accidental hosts⁶⁵. Mortality rates vary according to the genotype, ranging from 0.5% (DOBV - *Kurkino*) to 12% (DOBV - *Dobrava* and DOBV - *Sochi*)^{66,67}.

The most commonly detected viral agent of this group in Western Europe, *Puumala* virus (PUUV), is disseminated by *Myodes glareolus*, whose proliferation is favored by the underbrush vegetation of this region, and the spread of the virus is further affected by virus-host coevolution⁶⁸. In humans, it causes moderate nephropathy, and can lead to subclinical infections⁶⁹.

Seoul virus usually causes mild infections and without medical care the mortality rates reach 1%. The host of this virus (*R. norvegicus*) is found in urban areas, leading to a cosmopolitan distribution of the disease, in contrast to those caused by other Old World hantaviruses^{60,70}. The incubation period varies from 2-3 weeks, and the endothelial cell tropism of the virus⁷¹ produces nonspecific symptomatology (fever, headaches, muscle pain, nausea, vomiting), in addition to respiratory problems, dizziness, and diarrhea. Thrombocytopenia entails the development of petechias, and decreased blood pressure affects kidney function, causing renal failure followed by disseminated intravascular coagulation⁷².

Hantavirus cardiopulmonary syndrome (HCPS) is another pathology associated with agents of the genus New World hantaviruses (Americas), and appears to be related to climatic phenomena such as *El Niño*⁵⁸.

The first report of hantavirus in Brazil dates from 1993, when *Juquitiba* virus, transmitted by *Oligoryzomys nigripes*, was detected by Silva et al. (1997)⁷³. To date, the following viruses have been identified in the country: (a) *Araraquara* virus (transmitted by *Necromys lasiurus* rodents); (b) *Castelo dos Sonhos* virus (*Oligoryzomys utiaritensis*); (c) *Laguna Negra* virus (*Calomys callidus*); (d) *Anajatuba* virus (*Oligoryzomys mattogrossae*); and *Rio Mamore* virus (*Oligoryzomys microtis*), among others²⁰.

The incubation period of HCPS ranges between 16-24 days, with initial nonspecific HFRS-like symptomatology differentiated by pulmonary edema and lymphoid organ impairment⁷⁴, which may cause cardiovascular shock and death⁷². Studies indicate that this pulmonary phase lasts approximately 1 week, but long-lasting sequelae have been reported, such as dyspnea and weakness⁶¹. According to available data from the Brazilian Ministry of Health, 2061 people had been infected in the country as of 2017, with a lethality rate of 40.1%⁷⁵.

In rodents, this virus causes a chronic infection with mild symptomatology such as decreased growth⁷⁶ and renal problems⁷⁷, although it is usually asymptomatic. This can be explained by the coevolution of rodents with the virus over millions of years⁷⁸. Hantavirus can be diagnosed by associating the patient's history with the presence of wild or synanthropic rodents. Tests for hantavirus include specific serological detection using ELISA (IgM or IgG) or viral detection using RT-PCR or real-time PCR⁷⁹.

The occurrence of HFRS has not yet been reported in Brazil, despite serologically positive human and rodent samples⁸⁰. For example, in an urban area in Salvador, Brazil, *Seoul* virus antibodies were found in *R. norvegicus* serum samples⁸¹. A molecular survey conducted in Madagascar detected the *Anjzorobe* virus (Thailand *Orthohantavirus*) strain in *R. rattus* and *M. musculus*, suggesting viral spillover⁸².

To our knowledge, there is no licensed vaccine available on the market that prevents hantavirus infections. Several clinical trials at different stages are ongoing to test inactivated (monovalent and bivalent), DNA, and live attenuated vaccines for both HFRS and HCPS, with effectiveness of approximately 93.77-100% being reported⁸³⁻⁸⁵. Additionally, studies have demonstrated that the use of antiviral ribavirin increases the survival rate in hantavirus-infected rats⁸⁶⁻⁸⁸.

ROTAVIRUS (RV)

Rotavirus (RV) belongs to the *Rotavirus* genus within the *Sedoreovirinae* subfamily of the *Reoviridae* family⁵³. These nonenveloped viruses have a double-stranded RNA genome of approximately 18550 bp in length, fragmented into 11 segments. The genome encodes six structural (VP1, VP2, VP3, VP4, VP6, and VP7) and six nonstructural (NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, and NSP5/6) proteins, as the NSP5/6 gene is bicistronic^{89,90}.

Myriad mechanisms of viral variability occur in RVs, such as point mutations, rearrangements, reassortments, and intragenic recombination, conferring great genetic diversity^{91,92}. This genus is divided into nine different groups (RVA-RVI) based on the antigenic properties and nucleotide sequences of the VP6 protein^{89,93,94}, and there is a potential candidate tenth group, RVJ⁹⁵.

For the RVA group, it is necessary to adopt the notation of Gx-P[x]-Ix-Rx-Cx-Mx-Ax-Nx-Tx-Ex-Hx, which considers all the variability presented by the coding genes of the VP7-VP4-VP1-VP2-VP3-NSP1-NSP2-NSP3-NSP4-NSP5/6 proteins, respectively⁹⁶. To date, this group has at least 36 known G genotypes and 51 known P genotypes in humans and animals^{93,97-99}.

Although rotaviruses are considered species-specific, heterologous infections may occur¹⁰⁰. Wa-like and DS1-like (RVA)

strains primarily cause disease in humans, and infections caused by genotypes and serotypes common to animals have also been documented^{100,101}.

Synanthropic rodents are usually not associated with RVs, however, their efficiency in disease transmission and their close contact with other animals and people highlight their importance to the epidemiology of these viruses^{101,102}.

Transmission initially occurs through the fecal-oral route, via particles present in the soil and water, causing diarrhea due to the loss of absorptive capacity of injured intestinal cells during viral replication¹⁰³. Diarrhea is a leading cause of infant mortality worldwide, and rotavirus infections are responsible for more than 35% of these cases¹⁰⁴.

RVs are widely distributed in Brazil, and have been described in animals (both young and adults) such as cattle¹⁰⁵, birds¹⁰⁶, and pigs^{107,108}. In rodents, there is a single report of RVA associated with swine production¹⁰⁹.

A metagenomic analysis of *R. norvegicus* in Germany characterized a sample of RVA, revealing close identity between the identified strain and other animal and human strains, namely, genotypes G3, P[3], and N2¹¹⁰.

In Italy, 40 fecal samples from *R. rattus* collected on swine farms were analyzed, and a sample of RVA was characterized (G3-P[3]-I1-R11-C11-M10-A22-N18-T14-E18-H13), demonstrating an atypical combination of genotypes¹⁰².

As the associated symptomatology is mainly nonspecific, the diagnosis can easily be misleading¹¹¹. Commercial ELISA kits, RT-PCR (single or multiplex), and qPCR assays^{99,102,110} are available for the detection of these infections.

To control this disease, animal vaccination (swine and cattle) should be carried out, mainly in females in the late gestation period. In production animals, prevalence rates may be higher than 90% in adults¹⁰³. For humans, two vaccines are authorized by the WHO: (a) Rotarix® (GlaxoSmithKline Biologicals, Rixensart, Belgium, an attenuated strain of G1P [8] RVA) and (b) RotaTeq® (Merck & Co., Whitehouse Station, NJ, with five strains of genotypes G1P [5], G2P [5], G3P [5], G4P [5] and G6P [8]).

CORONAVIRUS (COV)

Coronaviruses are enveloped, nonsegmented, positive, single-stranded RNA viruses associated with the structural N-phosphoprotein in a nucleocapsid with helical symmetry^{112,113}. They are found in a wide variety of animals causing respiratory, enteric, hepatic, and neurological diseases of varying severity¹¹⁴. According to the International Committee on Taxonomy of Viruses, two subfamilies belong to the *Coronaviridae* family; *Letovirinae*, which has one subgenus, *Milecovirus*, found only in frogs and a sea hare thus far¹¹⁵, and *Orthocoronavirinae*, which is found in birds and mammals, and is divided into four genera due to the antigenic and genetic characteristics of the viruses^{53,116}.

Phylogenetic studies indicate that bats are the gene source for *Alpha* and *Betacoronaviruses*, while birds are the gene source for *Gama* and *Deltacoronaviruses*¹¹⁷. Thus, *Alpha* and

Betacoronaviruses are found mainly in mammals, such as humans, dogs, cats, pigs, bats, mice, rats, horses, and cattle^{114,118-123}, while *Gama* and *Deltacoronaviruses* infect mainly birds, with exceptions such as the white whale *Gamacoronavirus* (*Delphinapterus leucas*)¹²⁴ and the porcine *Deltacoronavirus*¹²⁵.

Among the *Alpha* and *Betacoronaviruses*, six are of public health importance, causing mild (HCoV-229E, NL63, OC43, and HKV1) to severe respiratory syndromes (SARS and MERS)^{120,126,127}.

Despite the many uncertainties about the epidemiology and reservoirs of severe acute respiratory syndrome (SARS) and Middle Eastern respiratory syndrome (MERS), bats have been identified as the most likely reservoirs, while palm civets (*Paguma larvata*)¹²⁸ and dromedary camels (*Camelus dromedarius*)^{129,130} act as intermediary hosts before dissemination to humans^{120,131,132}. Both diseases have caused worldwide health problems, affecting 27 countries and causing hundreds of deaths in 2002 (SARS) and 2012 (MERS), aggravated by nosocomial transmission or transmission by family members¹²⁶.

In general, the virion contains at least three proteins: the spike (S), membrane (M), and envelope (E) proteins. In addition, some coronaviruses include hemagglutinin esterase (HE)¹³³. Proteins M and E are related to viral assembly¹³⁴, while the S protein shows hemagglutinating activity and is the main target for neutralizing antibodies¹³⁵.

The S protein, which shows great variability, is responsible for host specificity because its S1 and S2 subunits are used for binding the virus to host cell receptors, and are associated with the antigenicity and pathogenicity of the virus^{112,136}.

Many similarities exist between the CoVs of rats and bats^{119,120,140,141}, suggesting that rodents could act as important reservoirs¹⁴². A survey conducted on 330 intestinal content samples from rodents (*Apodemus* sp., *Myodes glareolus*, *Arvicola terrestris*, and *Microtus* sp.), collected between 2014 and 2016 in different regions of France¹²¹, revealed positivity of 6.3% (21 samples), all belonging to *Alphacoronavirus* groups. This study also revealed *Alpha* and *Betacoronavirus* in bats, rabbits, and hedgehogs from the same area¹²¹.

An investigation conducted in China¹²⁰, analyzed 177 rodent intestinal samples from three different species (*Apodemus chevrieri*, *Apodemus ilex*, and *Eothenomys fidelis*), and found *Alpha* and *Betacoronavirus* in 13% (23 samples).

Besides field investigations, rodent CoV also has an important role as Murine hepatitis virus (MHV)⁽¹³⁷⁾, and has been used for experimental infections, mostly for the identification of potential viruses showing interspecies transmission¹¹⁹. Although there is little information about the prevalence and diversity CoV in rodents^{138,139}, many new species of *Alpha* and *Betacoronaviruses* (LRNV, LAMV, LRLV, and HKU24) have been identified in rodents in China and Europe^{119,120,140,141}.

Some vaccine candidates are being developed only for MERS-CoV, including whole-virus, vectored virus, DNA, and protein-based vaccines, however, lack of investment is delaying their development¹⁴³.

ARENAVIRUS (AV)

Arenaviruses (genus *Arenavirus*, family *Arenaviridae*) are enveloped viruses with an RNA genome segmented in two ambisense single stranded molecules: small (S) and large (L)⁽⁵³⁾. The S portion encodes nucleocapsid protein and envelope glycoproteins, while L segment contains RNA dependent RNA polymerase (RdRp) and zinc-binding protein genes. Both S and L intergenic regions may potentially form one or more hairpins, which regulate mRNA transcription^(53,144-146).

This viral family has four genera, based on phylogenetic analysis involving pairwise sequence comparisons (PASC) of complete genomes^(53,147). *Antennavirus* genus includes viruses that infect frogfish⁽¹⁴⁸⁾, *Hartmanivirus* and *Reptarenavirus* infect snakes, and *Mammarenavirus*, which have been reported in bats, ticks, rodents, and primates, including humans^(146,147).

Mammarenaviruses are correlated to the geographical location where their hosts are found⁽¹⁴⁷⁾; currently classified as: (a) Old World (OW) (*Lassa virus*, *Lujo virus*, among others), and found mainly in Africa in rodents of the *Murinae* family as natural hosts⁽¹⁴⁹⁾. Although *Lymphocytic choriomeningitis virus* (LCMV) belongs to this category, it circulates globally⁽¹⁴⁶⁾. Approximately 5% of the human population have been exposed to LCMV, due to the ubiquity of the virus host, *M. musculus*⁽¹⁵⁰⁾; (b) New World (NW), found in the American continent, are divided into four clades (A-D)⁽¹⁵¹⁾. Examples of NW viruses are *Junin virus* - Argentina⁽¹⁵²⁾, *Machupo virus* - Bolivia⁽¹⁵³⁾, *Sabiá virus* - Brazil⁽¹⁵⁴⁾, and *Guanarito virus* - Venezuela⁽¹⁵⁵⁾. *Sigmodontinae* rodents are the main hosts of this class, even though *Tacaribe virus* has already been described in bats⁽¹⁵⁶⁾ and *Amblyomma americanum* ticks⁽¹⁵⁷⁾.

Members of both OW and NW arenaviruses can cause hemorrhagic fever and severe human diseases affecting the central nervous system⁽¹⁵⁸⁾. Zoonotic transmission is through contact with rodents' urine or feces, and human-to-human transmission is possible⁽¹⁴⁶⁾. Because of their impact on human health and rapid spread, they are potential bioterrorism agents⁽¹⁵⁹⁾.

In Colombia, a study conducted with *M. musculus*, collected from residential areas, detected 10% (8/80) of positives in serological analysis for LCMV. When brain samples of the same animals were submitted to RT-PCR, serologically negative individuals showed positive results in this second analysis, highlighting the importance of parallel diagnosis⁽¹⁶⁰⁾. It can be justified by the vertical transmission among rodents that may deactivate cytotoxic T- lymphocytes, generating immune-complexes that may lead to misdiagnosis of ELISA reactions⁽¹⁶⁰⁾.

A research conducted in French Guiana sampled 37 animals (*M. musculus*) of which two were positive for LCMV by hemi-nested PCR (from lung and kidney samples)⁽¹⁶¹⁾; another inquiry in Argentina reported that 9.4% of the mice collected were positive for arenavirus, and the serological rate was 4.6% and 2.6% for men and women, respectively⁽¹⁶²⁾. In Baltimore (USA), 9% of the mice were seropositive for LCMV⁽¹⁶³⁾, and 4.7% of the people were analyzed⁽¹⁶⁴⁾. In Brazil, to our knowledge, there are no serological records on the prevalence of LCMV in rodents or humans.

Lassa virus (OW) is endemic in African countries, with seroprevalence reaching about 50% of the human population; this

disease causes about 5,000 deaths every year⁽¹⁶⁵⁾. *Mastomys natalensis* is considered the main reservoir of the virus⁽¹⁶⁶⁾, but it can also be found in *Hylomyscus pamfi* and *Mastomys erythroleucus*⁽¹⁶⁷⁾.

Surveys conducted in Nigeria reported positive animals for *Lassa virus* in *M. natalensis* and *M. erythroleucus*, *R. rattus*⁽¹⁶⁸⁾, and *M. musculus*⁽¹⁶⁹⁾. In China, RT-PCRs performed in organs of *R. rattus* and *R. norvegicus* showed positive rates of 75% and 17%, respectively, and a new viral species, the *Wenzhou virus*, was isolated⁽¹⁴⁵⁾.

Junin virus is considered endemic in Argentina⁽¹⁷⁰⁾ and sporadic outbreaks have been reported⁽¹⁷¹⁾. There are several promising vaccinal prototypes being developed for this virus, most are in the preclinical stage⁽¹⁷²⁾ and one, based on plasmidial DNA, has already reached human test phase⁽¹⁷³⁾.

In Brazil, the most remarkable arenavirus is *Sabiá virus*, reported in São Paulo (Brazil) in 1994. Initial symptoms were described as flu-like (fever, sickness, headaches, and lethargy), quickly leading to hemorrhage and death (within 3 days)^(154,174). There have been two reports of this virus, caused by occupational exposure in a laboratory environment, one in Pará (Brazil) and the other in Connecticut (USA), both with non-fatal courses^(175,176). The 4th case was described in São Paulo (Brazil) in 1999⁽¹⁷⁷⁾ and the 5th, on January 2020 in Sorocaba (São Paulo, Brazil)⁽¹⁷⁸⁾ as a natural infection with lethal outcome.

A new arenavirus, namely *Pinhal virus*, has been characterized as a New World arenavirus (line C), first isolated from vesper mice (*Calomys tener*) in São Paulo (Brazil), but there is still no evidence that this viral strain causes disease to humans^(177,179). Besides *Pinhal virus*, other arenaviruses have been reported in Brazil: *Xapuri virus* was recently isolated from rodents (*Neacomys musseri*); *Amapari virus* (*Neacomys guianae*); *Cupixi virus* (*Oryzomys megacephalus*); *Flexal virus* (unidentified *Oryzomyini* rodent); *Oliveros virus* (*Necomys lasiurus*); *Latino virus* (*Calomys callosus* and *Calomys callidus*) and *Aporé virus* (*Oligoryzomys mottogrossae*)⁽¹⁸⁰⁾.

Arenaviruses can be diagnosed using: (a) RT-PCR (fluids, feces, and tissues) followed by viral RNA sequencing for differentiation; (b) serology, through detection of specific IgG and IgM employing immunofluorescence and/or ELISA tests; (c) viral isolation in cell culture.

Recommended treatment is support therapy that can be combined with the antiviral ribavirin, which should be administered during the first 7-10 days after infection. Despite its efficacy, there are significant side effects, such as hemolytic anemia, progressive weight loss, respiratory difficulty, insomnia, and dermatitis, among others⁽¹⁸⁰⁻¹⁸²⁾. Alternative drugs with less side effects have been tested, such as favipiravir⁽¹⁸³⁾ and triaryl methane clotrimazole⁽¹⁸⁴⁾. Cocktails using multiple antiviral drugs that target different steps of the viral life cycle appear to be the best strategy to limit viral multiplication with lower risk of drug resistance⁽¹⁸⁵⁾.

In literature we find description of viral rodent-infections, usually from within the context of biological models or experimentation. In this review, we focus on rodents within an urban environment, especially *R. rattus*, *R. norvegicus*, and *M. musculus*, although with the advancement of human populations, the interaction with

wild rodents increases, and different viruses can emerge. There are relatively few studies addressing the monitoring of viruses in these hosts, favoring the occurrence of outbreaks.

Control and preventive activities should go beyond the elimination or reduction of the populations of these hosts and involve sanitary education to aid the human population in the reduction of shelters for the hosts, the restriction of rodent access to residences, and the reduction of their water and food supply. Basic sanitation actions are a generic but effective measure in the reduction of rodents and, consequently, the propagation of diseases.

AUTHORS' CONTRIBUTION

MLG and FG: revision design, participated in data analysis, discussion, writing draft and review; **CMB and RMS:** participated in data analysis, discussion, writing draft and review.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

FINANCIAL SUPPORT

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brazil (CAPES).

REFERENCES

- Meerburg BG, Singleton GR, Kijlstra A. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Crit Rev Microbiol.* 2009;35(3):221-70.
- Costa F, Carvalho-Pereira T, Begon M, Riley L, Childs J. Zoonotic and Vector-Borne Diseases in Urban Slums: Opportunities for Intervention. *Trends Parasitol.* 2017;33(9):660-2.
- Cavia R, Cueto GR, Suárez OV. Changes in rodent communities according to the landscape structure in an urban ecosystem. *Landsc Urban Plan.* 2009;90(1-2):11-9.
- Johnston RF. Synanthropic birds of North America. *In: Marzluff JM, Bowman R, Donnelly R. Avian ecology and conservation in an urbanizing world.* Boston: Springer; 2001.49-67.
- McFarlane R, Sleight A, McMichael T. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian-Australasian region. *EcoHealth.* 2012;9(1):24-35.
- Chagas CRF, Gonzalez IHL, Favoretto SM, Ramos PL. Parasitological surveillance in a rat (*Rattus norvegicus*) colony in São Paulo Zoo animal house. *Ann Parasitol.* 2017;63(4):291-7.
- Firth C, Bhat M, Firth MA, Williams SH, Frye MJ, Simmonds P, et al. Detection of Zoonotic Pathogens and Characterization of Novel Viruses Carried by Commensal *Rattus norvegicus* in New York City. *Mbio.* 2014;5(5):1-16.
- Rabiee MH, Mahmoudi A, Siahsharvie R, Krystufek B, Mostafavi E. Rodent-borne diseases and their public health importance in Iran. *Plos Negl Trop Dis.* 2018;12(4):e0006256.
- Reis RB, Ribeiro GS, Felzemburgh RDM, Santana FS, Mohr S, Melendez AXTO, et al. Impact of Environment and Social Gradient on Leptospira Infection in Urban Slums. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2(4):e228.
- Cavia R, Cueto GR, Suárez OV. Techniques to Estimate Abundance and Monitoring Rodent Pests in Urban Environments. *In: Larramendy ML & Soloneski S, Integrated pest management and pest control - current and future tactics.* Croatia: InTech; 2012.147-72.
- Panti-May JA, Carvalho-Pereira TSA, Serrano S, Pedra GG, Taylor J, Pertile AC, Minter A, Airam V, et al. A Two-Year Ecological Study of Norway Rats (*Rattus norvegicus*) in a Brazilian Urban Slum. *PLoS ONE.* 2016;11(3):e0152511.
- Krebs CJ. Demographic changes in fluctuating populations of *Microtus californicus*. *Ecol Monograph.* 1966;36(3):239-73.
- Masi E, Vilac,a PJ, Razzolini MTP. Environmental factors and rodent infestation in Campo Limpo District, São Paulo, Brazil. *Int J Environ Health Res.* 2009;19(1):1-16.
- Santos NJ, Sousa E, Reis MG, Ko AI, Costa F. Rat infestation associated with environmental deficiencies in an urban slum community with high risk of leptospirosis transmission. *Cad Saúde Pública.* 2017;33(2):1-13.
- Garden J, McAlpine C, Peterson A, Jones D, Possingham H. Review of the ecology of Australian urban fauna: a focus on spatially explicit processes. *Austral Ecol.* 2006;31(2):126-48.
- Amaral CD, Costa GB, Souza WM, Alves PA, Borges IA, Tolardo AL, et al. Silent *Orthohantavirus* circulation among humans and small mammals from Central Minas Gerais, Brazil. *EcoHealth.* 2018;15(3):577-89.
- Oliveira JS, Figueiredo PO, Costa GB, Assis FL, Drumond BP, Fonseca FG, et al. *Vaccinia* Virus Natural Infections in Brazil: The Good, the Bad, and the Ugly. *Viruses* 2017;9(11):340.
- Saez AM, Haidara MC, Camara A, Kourouma F, Sage M, Magassouba NF, et al. Rodent control to fight Lassa fever: Evaluation and lessons learned from a 4-year study in Upper Guinea. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018;12(11):e0006829.
- Vadell MV, Villafañe IEG. Environmental Variables Associated with Hantavirus Reservoirs and Other Small Rodent Species in Two National Parks in the Paraná Delta, Argentina: Implications for Disease Prevention. *EcoHealth.* 2016;13(2):248-60.
- Fernandes J, Oliveira RC, Coelho TA, Martins RMB, Caetano KAA, Horta MAP, et al. Rodent-borne viruses survey in rural settlers from Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2019;114:e180448.
- Olsson GE, Dalerum F, Hörnfeldt B, Elgh F, Palo TR, Juto P, et al. Human hantavirus infections, Sweden. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(11):1395-401.
- Santos IO, Figueirdo GG, Figueiredo LT, Azevedo MR, Novo NF, Vaz CA. Serologic survey of hantavirus in a rural population from the northern State of Mato Grosso, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013;46(1):30-3.
- Fair J, Jentes E, Inapogui A, Kourouma K, Goba A, Bah A, et al. Lassa Virus-Infected Rodents in Refugee Camps in Guinea: A Looming Threat to Public Health in a Politically Unstable Region. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2007;7(2):167-71.
- Bonner PC, Schmidt W-P, Belmain SR, Oshin B, Baglolle D, Borchert M. Poor housing quality increases risk of rodent infestation and Lassa Fever in refugee camps of Sierra Leone. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77(1):169-75.
- Song M, Wang B, Liu J, Gratz N. Insect Vectors and Rodents Arriving in China Aboard International Transport. *J Travel Med.* 2003;10(4):241-4.
- Mouchtouri VA, Anagnostopoulou R, Samanidou-Voyadjoglou A, Theodoridou K, Hatzoglou C, Kremastinou J, et al. Surveillance study of vector species on board passenger ships, Risk factors related to infestations. *BMC Public Health.* 2008;8:100.
- Cao S, Ma J, Cheng C, Ju W, Wang Y. Genetic characterization of hantaviruses isolated from rodents in the port cities of Heilongjiang, China, in 2014. *BMC Vet Res.* 2016;12:69.
- Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW. Computer-assisted assignment of functional domains in

- the non-structural polyprotein of *hepatitis E* virus: Delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1992;89(17):8259-63.
29. Purdy MA, Harrison TJ, Jameel S, Meng X-J, Okamoto H, Van der Poel WHM, et al and ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Hepeviridae*. *J Gen Virol*. 2017; 98:2645-6.
 30. Simanavicius M, Juskaite K, Verbickaite A, Jasiulionis M, Tamosiunas PL, Petraityte-Burneikiene R, et al. Detection of rat hepatitis E virus, but not human pathogenic *hepatitis E* virus genotype 1-4 infections in wild rats from Lithuania. *Vet Microbiol*. 2018;221:129-33.
 31. Li TC, Chijiwa K, Sera N, Ishibashi T, Etoh Y, Shinohara Y, et al. *Hepatitis E* Virus Transmission from Wild Boar Meat. *Emerg Infect Dis*. 2005;11(12):1958-60.
 32. Marrone G, Biolato M, Mercurio G, Capobianchi MR, Garbuglia AR, Liguori A, et al. Acute HEV hepatitis: clinical and laboratory diagnosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2019;23(2):764-70.
 33. Howard CM, Handzel T, Hill VR, Grytdal SP, Blanton C, Kamili S, et al. Novel Risk Factors Associated with *Hepatitis E* virus Infection in a Large Outbreak in Northern Uganda: Results from a Case-Control Study and Environmental Analysis. *Am J Trop Med Hyg*. 2010;83(5):1170-3.
 34. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, Eberhardt M, Knabbe C, Dreier J. A novel approach for the detection of *Hepatitis E* virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012;50(8):2708-13.
 35. Karenyii IUV, Dzhumaliev DI, Usmanov RK, Titova IP, Litvak IAI, Balaian MS. The possible involvement of rodents in the spread of viral *hepatitis E*. *Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol*. 1993;4(4):52-6.
 36. Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, Chawla YK, Kaur U, Ganguly NK. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. *Lancet*. 1993;341:149-150.
 37. Ryll R, Bernstein S, Heuser E, Schlegel M, Dremsek P, Zumpe M, et al. Detection of rat *Hepatitis E* virus in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*) and Black rats (*Rattus rattus*) from 11 European countries. *Vet Microbiol*. 2017;208:58-68.
 38. Jothikumar N, Cromeans TL, Robertson BH, Meng XJ, Hill VR. A broadly reactive one-step real-time RT-PCR assay for rapid and sensitive detection of *Hepatitis E* virus. *J Virol Method*. 2006;131(1):65-71.
 39. Johne R, Dremsek P, Kindler E, Schielke A, Plenge-Bönig A, Gregersen H, et al. Rat *Hepatitis E* virus: geographical clustering within Germany and serological detection in wild Norway rats (*Rattus norvegicus*). *Infect Genet Evol*. 2012;12(5):947-56.
 40. Li W, Guan D, Su J, Takeda N, Wakita T, Li TC, et al. High prevalence of rat hepatitis E virus in wild rats in China. *Vet Microbiol*. 2013;165(3-4):275-80.
 41. Lenggenhager D, Weber A. An Update on the Clinicopathologic Features and Pathologic Diagnosis of *Hepatitis E* in Liver Specimens. *Adv Anat Pathol*. 2018;25(4):273-81.
 42. Gupta E, Agarwala P. *Hepatitis E* virus infection: An old virus with a new story! *Zoonoses Public Health*. 2018;36(3):317-23.
 43. Smith DB, Simmonds P, Izopet J, Oliveira-Filho EF, Ulrich RG, Johne R, et al. Proposed reference sequences for *Hepatitis E* virus subtypes. *J Gen Virol*. 2016;97(3):537-42.
 44. Park WJ, Park BJ, Ahn HS, Lee JB, Park SY, Song CS, et al. *Hepatitis E* virus as an emerging zoonotic pathogen. *J Vet Sci*. 2016;17(1):1-11.
 45. Vitral CL, Pinto MA, Lewis-Ximenez LL, Khudyakov YE, dos Santos DR, Gaspar AMC. Serological evidence of *Hepatitis E* virus infection in different animal species from the Southeast of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(2):117-22.
 46. Johne R, Heckel G, Plenge-Bönig A, Kindler E, Maresch C, Reetz J, et al. Novel *Hepatitis E* virus genotype in Norway rats. *Ger. Emerg Infect Dis*. 2010;16(9):1452-5.
 47. Johne R, Plenge-Bönig A, Hess M, Ulrich RG, Reetz J, Schielke A. Detection of a novel *Hepatitis E-like* virus in faeces of wild rats using a nested broadspectrum RT-PCR. *J Gen Virol*. 2010;91(3):750-8.
 48. Obana S, Shimizu K, Yoshimatsu K, Hasebe F, Hotta K, Isozumi R, et al. Epizootiological study of rodent-borne *Hepatitis E* virus HEV-C1 in small mammals in Hanoi, Vietnam. *J Vet Med Sci*. 2017;79(1):76-81.
 49. Huang F, Li Y, Yu W, Jing S, Wang J, Long F, et al. Excretion of infectious *Hepatitis E* virus into milk in cows imposes high risks of zoonosis. *Hepatology*. 2016;64(2):350-8.
 50. Zeng MY, Gao H, Yan XX, Qu WJ, Sun YK, Fu GW, et al. High *Hepatitis E* virus antibody positive rates in dogs and humans exposed to dogs in the south-west of China. *Zoonoses Public Health*. 2017;64(8):684-8.
 51. Zhao T, Wang X, Wei H, Yang M, Zeng F, Zhou H. Molecular and functional characterization of grass carp squint/nodal-related 1: a potential regulator of activin signaling in teleost pituitary cells. *Domest Anim Endocrinol*. 2012;42(4):239-48.
 52. Cooper BS, White LJ, Siddiqui R. Reactive and pre-emptive vaccination strategies to control hepatitis E infection in emergency and refugee settings: A modelling study. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(9):e0006807
 53. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 10]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/>.
 54. Muyangwa M, Martynova EV, Khaiboullina SF, Morzunov SP, Rizvanov AA. Hantaviral proteins: structure, functions, and role in *Hantavirus* infection. *Front Microbiol*. 2015;6:1326.
 55. Zuo S-Q, Fang L-Q, Zhan L, Zhang P-H, Jiang J-F, Wang L-P, et al. Geo-spatial hotspots of hemorrhagic fever with renal syndrome and genetic characterization of *Seoul* Variants in Beijing, China. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(1):e945.
 56. Spiropoulou CF, Albarino CG, Ksiazek TG, Rollin PE. *Andes* and *Prospect Hill* hantaviruses differ in early induction of interferon although both can downregulate interferon signaling. *J Virol*. 2007;81(6):2769-76.
 57. Oliveira RC, Guterres A, Fernandes J, D'Andrea OS, Bonvicino CR, Lemos ERS. Hantavirus reservoirs: current status with an emphasis on data from Brazil. *Viruses*. 2014;6(5):1929-73.
 58. Guterres A, Lemos ERS. Hantaviruses and a neglected environmental determinant. *One Health*. 2018;5:27-33.
 59. Wells RM, Sosa ES, Yadon ZE, Enria D, Padula P, Pini N, et al. An unusual hantavirus outbreak in southern Argentina: person-to-person transmission? *Emerg Infect Dis*. 1997;3(2):171-4.
 60. Kim HC, Kim WK, No JS, Lee SH, Gu SH, Chong ST, et al. Urban rodent surveillance, climatic association, and genomic characterization of *Seoul* virus collected at US. Army Garrison, Seoul, Republic of Korea, 2006 - 2010. *Am J Trop Med Hyg*. 2018;99(2):470-6.
 61. Hjelle B, Torres-Pérez F. Hantaviruses in the Americas and Their Role as Emerging Pathogens. *Viruses*. 2010;2(12):2559-86.
 62. Lee HW, Lee PW, Baek LJ, Song CK, Seong IW. Intraspecific transmission of *Hantaan virus*, etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, in the rodent *Apodemus agrarius*. *Am J Trop Med Hyg*. 1981;30(5):1106-12.
 63. Yu X-J, Tesh RB. The role of mites in the transmission and maintenance of *Hantaan* Virus (Hantavirus: *Bunyaviridae*). *J Infect Dis*. 2014;210(11):1693-9.
 64. Hansen A, Cameron S, Liu Q, Sun Y, Weinstein P, Williams C, et al. Transmission of Haemorrhagic Fever with Renal Syndrome in China and the role of climate factors: a review. *Int J Infect Dis*. 2015;33:212-8.
 65. Gozalan A, Kalaycioglu H, Uyar Y, Sevindi DF, Turkyilmaz B, Çakir V, et al. Human *Puumala* and *Dobrava* Hantavirus infections in the Black

- Sea region of Turkey: a cross-sectional study. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013;13(2):111-8.
66. Hofmann J, Meier M, Enders M, Führer A, Ettinger J, Klempa B, et al. Hantavirus disease in Germany due to infection with *Dobrava-Belgrade* virus genotype Kurkino. *Clin Microbiol Infect.* 2010;20(10):O648-55.
67. Witkowski PT, Bourquain D, Bankov K, Auste B, Dabrowski PW, Nitsche A, et al. Infection of human airway epithelial cells by different subtypes of *Dobrava-Belgrade* virus reveals gene expression patterns corresponding to their virulence potential. *Virology.* 2016;493:189-201.
68. Laenen L, Vergote V, Vanmechelen B, Tersago K, Baele G, Lemey P, et al. Identifying the patterns and drivers of *Puumala* hantavirus enzootic dynamics using reservoir sampling. *Virus Evolution.* 2019;5(1):vez009.
69. Reil D, Rosenfeld UM, Imholt C, Schmidt S, Ulrich RG, Eccard JA, et al. *Puumala* hantavirus infections in bank vole populations: host and virus dynamics in Central Europe. *BMC Ecol.* 2017;17(1):9.
70. Ling J, Verner-Carlsson J, Eriksson P, Plyusnina A, Löhmus M, Järhult JD, et al. Genetic analyses of *Seoul* hantavirus genome recovered from rats (*Rattus norvegicus*) in the Netherlands unveils diverse routes of spread into Europe. *J Med Virol.* 2019;91(5):724-30.
71. Krautkrämer E, Zeier M. Old World hantaviruses: aspects of pathogenesis and clinical course of acute renal failure. *Virus Res.* 2014;187:59-64.
72. Jiang H, Zheng X, Wang L, Du H, Wang P, Bai X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virology.* 2017;32(1):32-43.
73. Silva MV, Vasconcelos MJ, Hidalgo NTR, Veiga APR, Canzian M, Marotto PCF, et al. Hantavirus pulmonary syndrome: Report of the first three cases in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 1997;39(4):231-4.
74. Ferres M, Vial P, Marco C, Yanez L, Godoy P, Castillo C, et al. *Andes virus household contacts study group*. Prospective evaluation of household contacts of persons with Hantavirus Cardiopulmonary Syndrome in Chile. *J Infect Dis* 2007;195(11):1563-71.
75. Ministério da Saúde [Internet]. Brasil: Ministério da Saúde. INC. Situação epidemiológica - dados hantavirose. [update 2019 Sep 15; cited 2019 Oct 01]. Available from: <http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/hantavirose/11304-situacao-epidemiologica-dados>.
76. Childs JE, Glass GE, Korch GW, Leduc JW. Effects of hantaviral infection on survival, growth and fertility in wild rat (*Rattus norvegicus*) populations of Baltimore, Maryland. *J Wildl Dis.* 1989;25(4):69-76.
77. Yanagihara R, Goldgaber D, Gajdusek DC. Propagation of nephropathia epidemica virus in Mongolian gerbils. *J Virol.* 1985;55(3):973-5.
78. Plyusnin A, Vapalahti O, Vaheri A. Hantaviruses: genome structure, expression and evolution. *J Gen Virol.* 1996;77(11):2677-87.
79. Jonsson CB, Figueiredo LT, Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23(2):412-41.
80. de Oliveira RC, Guterres A, Fernandes J, D'Andrea PS, Bonvicino CR, de Lemos ERS. Hantavirus Reservoirs: Current Status with an Emphasis on Data from Brazil. *Viruses.* 2014;6(5):1929-73.
81. Costa F, Porter FH, Rodrigues G, Farias H, de Faria MT, Wunder EA, et al. Infections by *Leptospira interrogans*, *Seoul* virus, and *Bartonella spp.* Among Norway rats (*Rattus norvegicus*) from the urban slum environment in Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014;14(1):33-40.
82. Raharinosy V, Olive MM, Andriamiarimanana FM, Andriamandimby SF, Ravalohery JP, Andriamamonjy S, et al. Geographical distribution and relative risk of *Anzozorobe* virus (Thailand *orthohantavirus*) infection in black rats (*Rattus rattus*) in Madagascar. *Virology.* 2018;15(1):83.
83. Maes P, Clement J, Van Ranst M. Recent approaches in Hantavirus vaccine development. *Expert Rev Vaccines.* 2009;8(1):67-76.
84. Kruger DH, Schonrich G, Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum Vaccin.* 2011;7(6):685-93.
85. Valdivieso F, Gonzalez C, Najera M, Olea A, Cuiza A, Aguilera X, et al. Knowledge, attitudes, and practices regarding hantavirus disease and acceptance of a vaccine trial in rural communities of southern Chile. *Hum Vaccin Immunother.* 2017;13(4):808-15.
86. Huggins JW, Hsiang CM, Cosgriff TM, Guang MY, Smith JI, Wu ZO, et al. Prospective, double-blind, concurrent, placebo-controlled clinical trial of intravenous ribavirin therapy of hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis.* 1991;164(6):1119-27.
87. Maes P, Clement J, Gavrilovskaya I, Van Ranst M. Hantaviruses: immunology, treatment, and prevention. *Viral Immunol.* 2004;17(4):481-97.
88. Jonsson CB, Hooper J, Mertz G. Treatment of hantavirus pulmonary syndrome. *Antiviral Res.* 2008;78(1):162-169.
89. Attoui H, Mertens PPC, Becnel J, Belaganahalli S, Bergoin M, Brussaard CP, et al. Orthoreovirus, Reoviridae. *In: Virus taxonomy. Classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on the Taxonomy of Viruses.* London: Elsevier Academic Press; 2011. 546-54.
90. Estes M, Greenberg HB. Rotaviruses. *In: Knipe DM, Howley PM, Cohen JI, Griffin DE, Lamb RA, Martin MA, Roizman B, Racaniello VR, Fields virology.* 6th ed. Pennsylvania: Lippincott Williams; 2013.1347-401.
91. Parra GI, Bok K, Martínez M, Gomez JA. Evidence of rotavirus intragenic recombination between two sublineages of the same genotype. *J Gen Virol.* 2004;85(6):1713-6.
92. Holmes EC, Worobey M, Rambaut A. Phylogenetic evidence for recombination in dengue virus. *Mol Biol Evol.* 1999;16(3):405-9.
93. Matthijnssens J, Otto P, Ciarlet M, Desselberger U, Van Ranst M, Johne R. VP6 sequence-based cut-off values as a criterion for rotavirus species demarcation. *Arch Virol.* 2011;157(6):1177-82.
94. Mihalov-Kovács E, Gellért A, Marton S, Farkas SL, Fehér E, Oldal M, et al. Candidate new rotavirus species in sheltered dogs, Hungary. *Emerg Infect Dis.* 2015, 21(4):660-3.
95. Bányaí K, Kemenesi G, Budinski I, Földes F, Zana B, Marton S, et al. Candidate new rotavirus species in Schreiber's bats, Serbia. *Infect Genet Evol.* 2017;48:19-26.
96. Matthijnssens J, Ciarlet M, Heiman E, Arijs I, Delbeke T, McDonald SM, et al. Classification of Rotaviruses Reveals a Common Origin between Human Wa-Like and Porcine Rotavirus Strains and Human DS-1-Like and Bovine Rotavirus Strains. *J Virol.* 2008;82(7):3204-19.
97. Guo D, Liu J, Lu Y, Sun Y, Yuan D, Jiang Q, et al. Full genomic analysis of rabbit rotavirus G3P[14] strain N5 in China: identification of a novel VP6 genotype. *Infect Genet Evol.* 2012;12(7):1567-76.
98. Trojnar E, Sachsenroder J, Twardziok S, Jochen R, Otto PH, Johne R. Identification of an avian group A rotavirus containing a novel VP4 gene with a close relationship to those of mammalian rotaviruses. *J Gen Virol.* 2013;94(1):136-42.
99. Joshi MS, Deore SG, Walimbe AM, Ranshing SS, Chitambar SD. Evaluation of different genomic regions of Rotavirus A for development of real time PCR. *J Virol Meth.* 2019;266:65-71.
100. Yodmeeklin A, Khamrin P, Chuchaona W, Kumthip K, Kongkaew A, Vachirachewin R, et al. Analysis of complete genome sequences of G9P[19] rotavirus strains from human and piglet with diarrhea provides evidence for whole-genome interspecies transmission of nonreassorted porcine rotavirus. *Infect Genet Evol.* 2017;47:99-108.

101. Li K, Lin X-D, Huang K-Y, Zhang B, Shi M, Guo W-P, et al. Identification of novel and diverse rotaviruses in rodents and insectivores, and evidence of cross-species transmission into humans. *Viol.* 2016;494:168-77.
102. Ianiro G, DI Bartolo I, De Sabato L, Pampiglione G, Ruggeri FM, et al. Detection of uncommon G3P[3] rotavirus A (RVA) strain in rat possessing a human RVA-like VP6 and a novel NSP2 genotype. *Infect Genet Evol.* 2017; 53: 206-11.
103. Vlasova AN, Amimo JO, Saif LJ. Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies. *Viruses.* 2017;9(3):48.
104. Rigo-Adrover MDM, Knipping K, Garssen J, van Limpt K, Knol J, Franch À, et al. Prevention of Rotavirus Diarrhea in Suckling Rats by a Specific Fermented Milk Concentrate with Prebiotic Mixture. *Nutrients.* 2019;11(1). pii:E189.
105. Rocha TG, Silva FDF, Gregori F, Alfieri AA, Buzinaro MG, Fagliari JJ. Longitudinal study of bovine rotavirus group A in newborn calves from vaccinated and unvaccinated dairy herds. *Trop Anim Health Prod.* 2017;49(4):783-90.
106. Beserra LAR, Gregori F. Description of Rotavirus F in Broilers from Brazilian Poultry Farms. *Avian Dis.* 2014;58(3):458-61.
107. Molinari BLD, Possattia F, Lorenzetti E, Alfieri AF, Alfieri AA. Unusual outbreak of post-weaning porcine diarrhea caused by single and mixed infections of rotavirus groups A, B, C, and H. *Vet Microbiol.* 2016;193:125-32.
108. Silva FDF, Gregori F, McDonald SM. Distinguishing the genotype 1 genes and proteins of human Wa-like rotaviruses vs. porcine rotaviruses. *Infect Genet Evol.* 2016;43:6-14.
109. Tonietti PO, Dahora AS, Silva FDF, Ferrari KL, Brandão PE, Richtzenhain LJ, et al. Simultaneous Detection of Group A Rotavirus in Swine and Rat on a Pig Farm in Brazil. *Scientific World Journal.* 2013;2013:648406.
110. Sachsenröder J, Braun A, Machnowska P, Ng TF, Deng X, Guenther S, et al. Metagenomic identification of novel enteric viruses in urban wild rats and genome characterization of a group A rotavirus. *J Gen Virol* 2014;95(12):2734-47.
111. Memon AM, Bhuyan AA, Chen F, Guo X, Menghwar H, Zhu Y, et al. Development and Validation of Monoclonal Antibody-Based Antigen Capture ELISA for Detection of Group A Porcine Rotavirus. *Viral Immunol.* 2017;30(4):264-70.
112. Holmes KV, Lai MMC. *Coronaviridae: the viroses and their replication.* In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM., *Virology.* 3 ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher; 1996:1075-93.
113. Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res.* 1997;48:1-100.
114. Wan Z, Zhang Y, He Z, Liu J, Lan K, Hu Y, et al. A Melting Curve-Based Multiplex RT-qPCR Assay for Simultaneous Detection of Four Human Coronaviruses. *Int J Mol Sci.* 2016;17(11):1880.
115. Bukhari K, Mulley G, Gulyaeva AA, Zhao L, Shu G, Jiang J, et al. Description and initial characterization of metatranscriptomic nidovirus-like genomes from the proposed new family *Abysoviridae*, and from a sister group to the *Coronavirinae*, the proposed genus *Alphaletovirus*. *Viol.* 2018;524:160-71.
116. Gorbalenya AE, Enjuanes L, Ziebuhr J, Snijder EJ. *Nidovirales: evolving the largest RNA virus genome.* *Virus Res.* 2006;117:17-37.
117. Woo PC, Lau SK, Lam CS, Lau CC, Tsang AK, Lau JH, et al. 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 *deltacoronavirus*. *J Virol.* 2012;86(7):3995-4008.
118. Yao Q, Masters PS, Yea R. Negatively charged residues in the endodomain are critical for specific assembly of spike protein into murine coronavirus. *Viol.* 2013;442(1):74-81.
119. Wang W, Lin XD, Guo WP, Zhou RH, Wang MR, Wang CQ, et al. Discovery, diversity and evolution of novel coronaviruses sampled from rodents in China. *Viol.* 2015;474:19-27.
120. Ge XY, Yang WH, Zhou JH, Li B, Zhang W, Shi ZL, et al. Detection of *alpha-* and *betacoronaviruses* in rodents from Yunnan, China. *Viol J.* 2017;14:98.
121. Monchatre-Leroy E, Boué F, Boucher JM, Renault C, Moutou F, Gouilh MA, et al. Identification of Alpha and Beta Coronavirus in Wildlife Species in France: Bats, Rodents, Rabbits, and Hedgehogs. *Viruses.* 2017;9(12):364.
122. Pana Y, Tianb X, Qin P, Wang B, Zhao P, Yang YL, et al. Discovery of a novel swine enteric *alphacoronavirus* (SeACoV) in southern China. *Vet. Microbiol.* 2017;211:15-21.
123. Bourgarel M, Pfukenyi DM, Boué V, Talignani L, Chiweshe N, Diop F, et al. Circulation of *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus* and *Paramyxovirus* in *Hipposideros* bat species in Zimbabwe. *Infect Genet Evol.* 2018;58:253-57.
124. Marandino A, Tomás G, Panzera Y, Greif G, Parodi-Talice A, Hernández M, et al. Whole-genome characterization of Uruguayan strains of avian infectious bronchitis virus reveals extensive recombination between the two major South American lineages. *Infect Genet Evol.* 2017;54:245-50.
125. Hu H, Jung K, Vlasova AN, Chepngeno J, Lu Z, Wang Q, et al. Isolation and characterization of porcine *deltacoronavirus* from pigs with diarrhea in the United States. *J Clin Microbiol.* 2015;53(5):1537-48.
126. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(8):523-34.
127. Yin Y, Wunderink RG. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirol.* 2018;23(2):130-7.
128. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 2003;302(5643):276-8.
129. Hemida MG, Perera RA, Wang P, Alhammadi MA, Siu LY, Li M, et al. Middle East Respiratory Syndrome (MERS) coronavirus seroprevalence in domestic livestock in Saudi Arabia, 2010 to 2013. *Euro Surveill.* 2013;18(50):20659.
130. Alagaili AN, Briese T, Mishra N, Kapoor V, Sameroff SC, Burbelo PD, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus infection in dromedary camels in Saudi Arabia. *MBio.* 2014;5(2):e00884-14.
131. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(3):181-92.
132. Song Z, Xu Y, Bao L, Zhang L, Yu P, Qu Y, et al. From SARS to MERS, Thrusting Coronaviruses into the Spotlight. *Viruses.* 2019;11(1):59.
133. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(6):439-50.
134. Belouzard S, Millet JK, Licitra BN, Whittaker GR. Mechanisms of coronavirus cell entry mediated by the viral spike protein. *Viruses.* 2012;4(6):1011-33.
135. Gélinas AM, Boutin M, Sasseville AM, 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 Res.* 2001;76(1):43-57.
136. Navas-Martin S, Weiss SR. SARS: Lessons learned from other Coronaviruses. *Viral Immunol.* 2003;16(4):461-74.

137. Cheever FS, Daniels JB, Pappenheimer AM, Bailey OT. A murine virus (JHM) causing disseminated encephalomyelitis with extensive destruction of myelin. *J Exp Med*. 1949;90(3):181-210.
138. Lane TE, Hosking MP. The pathogenesis of murine coronavirus infection of the central nervous system. *Crit Rev Immunol* 2010;30(2):119-30.
139. Funk CJ, Manzer R, Miura TA, Groshong SD, Ito Y, et al. Rat respiratory coronavirus infection: replication in airway and alveolar epithelial cells and the innate immune response. *J Gen Virol* 2009;90(12):2956-64.
140. Lau SK, Woo PC, Li KS, Tsang AK, Fan RY, Luk HK, et al. Discovery of a novel coronavirus, China Rattus coronavirus HKU24, from Norway rats supports the murine origin of *Betacoronavirus* 1 and has implications for the ancestor of *Betacoronavirus* lineage A. *J Virol*. 2015;89(6):3076-92.
141. Tsoleridis T, Onianwa, Horncastle E, Dayman E, Zhu M, Danjitrong T, et al. Discovery of Novel *Alphacoronaviruses* in European Rodents and Shrews. *Viruses*. 2016;8(3):84.
142. Phan MVT, Tri TN, Anh PH, Baker S, Kellam P, Cotton M. Identification and characterization of *Coronaviridae* genomes from Vietnamese bats and rats based on conserved protein domains. *Virus Evol*. 2018;4(2):vey035.
143. Okba N MA, Raj VS, Haagans BL. Middle East respiratory syndrome coronavirus vaccines: current status and novel approaches. *Curr Opin Chem Biol*. 2017;23:49-58.
144. Gonzalez JP, Emonet S, de Lamballerie X, Charrel R. *Arenaviruses*. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2007;315:253-88.
145. Li K, Lin XD, Wang W, Shi M, Guo WP, Zhang XH, et al. Isolation and characterization of a novel Arenavirus harbored by Rodents and Shrews in Zhejiang province, China. *Virology*. 2015;476:37-42.
146. Hallam SJ, Koma T, Maruyama J, Paessler S. Review of *Mammarenavirus* Biology and Replication. *Front Microbiol*. 2018;9:1751.
147. Radoshitzky SR, Buchmeier MJ, Charrel RN, Clegg JCS, Gonzalez JPJ, Günther S, et al, and the ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Arenaviridae*. *J Gen Virol*. 2019;100:1200-1.
148. Garry CE, Garry RF. Proteomics Computational Analyses Suggest that the *Antennavirus* Glycoprotein Complex Includes a Class I Viral Fusion Protein (α -Penetrene) with an Internal Zinc-Binding Domain and a Stable Signal Peptide. *Viruses*. 2019 14;11(8):e750.
149. Iannetta M, Di Caro A, Nicastrì E, Vairo F, Masanja H, Kobinger G, et al. Viral Hemorrhagic Fevers Other than Ebola and Lassa. *Infect Dis Clin North Am*. 2019;33(4):977-1002.
150. Ly H. Differential Immune Responses to New World and Old World Mammalian *Arenaviruses*. *Int J Mol Sci*. 2017;18(5):1040.
151. Sarute N, Ross SR. New World *Arenavirus* Biology. *Annu Rev Virol*. 2017;4(1):141-58.
152. Vanella JM, Gonzalez LE, Paglini S, Marquez A. Laboratory evidence of the activity of *Junin* virus in the southeast of Cordoba: hypothesis on its epidemiology. *Dia Med*. 1964;36:290-1.
153. Johnson KM, Mackenzie RB, Webb PA, Kuns ML. Chronic infection of rodents by *Machupo* virus. *Science*. 1965;150(3703):1618-9.
154. Coimbra TLM, Nassar ES, Burattini MN, Souza LTM, Ferreira IB, Rocco IM, et al. New arenavirus isolated in Brazil. *Lancet*. 1994;343(8894):391-2.
155. Fulhorst CF, Bowen MD, Salas RA, Duno G, Utrera A, Ksiazek TG, et al. Natural rodent host associations of *Guanarito* and *Piritital* viruses (Family *Arenaviridae*) in central Venezuela. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;61(2):325-30.
156. Gerrard DL, Hawkinson A, Sherman T, Modahl CM, Hume G, Campbell CL, et al. Transcriptomic Signatures of *Tacaribe* virus-Infected Jamaican Fruit Bats. *mSphere*. 2017;2(5):e00245-17
157. Saylor KA, Barbet AF, Chamberlain C, Clapp WL, Alleman R, Loeb JC, et al. Isolation of *Tacaribe* virus, a Caribbean arenavirus, from host-seeking *Amblyomma americanum* ticks in Florida. *PLoS One*. 2014;9:e115769.
158. Charrel RN, de Lamballerie X. Zoonotic aspects of arenavirus infections. *Vet Microbiol*. 2010;140(3-4):213-20.
159. US Dep. Health Hum. Serv. (HHS). HHS public health emergency medical countermeasure enterprise implementation plan for chemical, biological, radiological, and nuclear threats. US Dep. HHS, Off. Public Health Emerg. Med. Countermeas., Off. Assist. Sec. Prep. Response, Washington, DC. [cited 2019 Dez 18]. Available from: https://www.medicalcountermeasures.gov/barda/documents/phemce_implplan_041607final.pdf
160. Castellar A, Guevara M, Rodas JD, Londoño AF, Arroyave E, Díaz FJ, et al. Primera evidencia de infección por el virus de la coriomeningitis linfocítica (arenavirus) en roedores *Mus musculus* capturados en la zona urbana del municipio de Sincelejo, Sucre, Colombia. *Biomédica* 2017;37(1):75-85.
161. Lavergne A, de Thoisy B, Tirera S, Donato D, Bouchier C, Catzeflis F, et al. Identification of *lymphocytic choriomeningitis* mammarenavirus in house mouse (*Mus musculus*, Rodentia) in French Guiana. *Infect Genet Evol*. 2016; 37:225-30.
162. Riera L, Castillo E, Del Carmen Saavedra M, Priotto J, Sottosanti J, Polop J, et al. Serological study of the *lymphochoriomeningitis* virus (LCMV) in an inner city of Argentina. *J Med Virol*. 2005;76(2):285-9.
163. Childs JE, Glass GE, Korch GW, Ksiazek TG, Leduc JW. *Lymphocytic choriomeningitis* virus infection and house mouse (*Mus musculus*) distribution in urban Baltimore. *Am J Trop Med Hyg*. 1992;47(1):27-34.
164. Childs JE, Glass GE, Ksiazek TG, Rossi CA, Oro JG, Leduc JW. Human-rodent contact and infection with *lymphocytic choriomeningitis* and *Seoul* viruses in an inner-city population. *Am J Trop Med Hyg*. 1991;44(2):117-21.
165. Center for Disease Control and Prevention (CDC). *Lassa* virus (CDC) [Internet]. 2019 [cited 2019 Dez 18]. Available from: <https://www.cdc.gov/vhf/lassa/index.html>.
166. Richmond JK, Baglole DJ. Lassa fever: epidemiology, clinical features, and social consequences. *BMJ*. 2003;327(7426):1271-5.
167. Olayemi A, Cadar D, Magassouba N, Obadare A, Kourouma F, Oyeyiola A, et al. New hosts of The *Lassa* virus. *SciRep*. 2016;6:25280.
168. Olayemi A, Oyeyiola A, Obadare A, Igbokwe J, Adesina AS, Onwe F, et al. Widespread arenavirus occurrence and seroprevalence in small mammals, Nigeria. *Parasit Vectors*. 2018;11(1):416.
169. Agbonlahor DE, Erah A, Agba IM, Oviasogie FE, Ehiaghe AF, Wankasi M, et al. Prevalence of *Lassa* virus among rodents trapped in three South-South States of Nigeria. *J Vector Borne Dis*. 2017;54(2):146-150.
170. Mills JN, Ellis BA, Childs JE, McKee KT Jr, Maiztegui JI, Peters CJ, et al. Prevalence of infection with Junin virus in rodent populations in the epidemic area of Argentine hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hygiene*. 1994. 51(5):554-62.
171. Enria DA, Briggiler AM, Sanchez Z. Treatment of Argentine hemorrhagic fever. *Antivir Res*. 2008; 78(1):132-9.
172. Salami K, Gouglas D, Schmaljohn C, Saville M, Tornieporth N. A review of Lassa fever vaccine candidates. *Curr Opin Virol*. 2019, 37:105-11.
173. Cashman KA, Wilkinson ER, Shaia CI, Facemire PR, Bell TM, Bearss JJ, et al. A DNA vaccine delivered by dermal electroporation fully protects cynomolgus macaques against Lassa fever. *Hum Vaccin Immunother*. 2017;13(12):2902-2911.
174. Gonzalez JP, Bowen MD, Nichol ST, Rico-Hesse R. Genetic characterization and phylogeny of *Sabiá* virus, an emergent pathogen in Brazil. *Virology*. 1996;221(2):318-24.

175. Vasconcelos PFC, Travassos da Rosa APA, Rodrigues SG, Tesh RB, Travassos da Rosa JFS, Travassos da Rosa ES. Infecção humana adquirida em laboratório causada pelo vírus SP H 114202 (Arenavirus: família *Arenaviridae*) - Aspectos clínicos e laboratoriais. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1993;35(6):521-5.
176. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Arenavirus infection - Connecticut. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 1994;43(34):635-6.
177. Ellwanger JH, Chies JAB. Keeping track of hidden dangers - The short history of the *Sabiá* virus. Rev Soc Bras Med Trop. 2017;50(1):3-8.
178. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico - Secretaria de Vigilância em Saúde. Identificação de um caso de febre hemorrágica brasileira no estado de São Paulo, janeiro de 2020.[Internet] 2020; 51(3) [update 2020 Jan 20; cited 2020 Jan 21]. Available from: <http://portal.arquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/janeiro/20/Boletim-epidemiologico-SVS-03.pdf>
179. Bisordi I, Levis S, Maeda AY, Suzuki A, Nagasse-Sugahara TK, de Souza RP, et al. *Pinhal* Virus, a New Arenavirus Isolated from *Calomys tener* in Brazil. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015;15(11):694-700.
180. Fernandes J, Guterres A, de Oliveira RC, Jardim R, Dávila AMR, Hewson R, et al. *Aporé* virus, a novel *mammarenavirus* (Bunyavirales: *Arenaviridae*) related to highly pathogenic virus from South America. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2019;114:e180586.
181. Barry M, Russi M, Armstrong L, Geller DL, Tesh R, Dembry L, et al. Treatment of laboratory-acquired *Sabiá* virus infection. N Engl J Med. 1995;333(5):294-6.
182. Kochhar DM, Penner JD, Knudsen TB. Embryotoxic, teratogenic, and metabolic effects of ribavirin in mice. Toxicol Appl Pharmacol. 1980;52(1):99-112.
183. Westover JB, Sefing EJ, Bailey KW, Wettete AJ, Jung K-H, Dagley A, et al. Low-dose ribavirin potentiates the antiviral activity of favipiravir against hemorrhagic fever viruses. Antiviral Res. 2016;126:62-68.
184. Torriani G, Trofimenko E, Mayor J, Fedeli C, Moreno H, Michel S, et al. Identification of Clotrimazole Derivatives as Specific Inhibitors of Arenavirus Fusion. J Virol. 2019; 93(6): e01744-18.
185. Lee AM, Rojek JM, Spiropoulou CF, Gundersen AT, Jin W, Shaginian A, et al. Unique small molecule entry inhibitors of hemorrhagic fever arenaviruses. J Biol Chem. 2008; 283(27):18734-42.

Erratum

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical/Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine

Title: Synanthropic rodents as virus reservoirs and transmitters

Vol.53:e20190486: 2020 - Page: 4/11 - doi: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0486-2019>

Here is the form in which the information is found: “According to the International Committee on Taxonomy of Viruses, two subfamilies belong to the *Coronaviridae* family; *Letovirinae*, which has one subgenus, *Milecovirus*, found only in frogs and a sea hare thus far¹¹⁵, and *Orthocoronavirinae*, which is found in birds and mammals, and is divided into four genera due to the antigenic and genetic characteristics of the viruses^{53,116}.”

It should be read: “According to the International Committee on Taxonomy of Viruses, two subfamilies belong to the *Coronaviridae* family; *Letovirinae*, which has one subgenus, *Milecovirus*, found only in frogs (*Microhyla fissipes*) thus far¹¹⁵, and *Orthocoronavirinae*, which is found in birds and mammals, and is divided into four genera due to the antigenic and genetic characteristics of the viruses^{53,116}”

APÊNDICE B – Listagem das amostras identificadas pelo método de visualização das cı́balas fecais de roedores sinantrópicos fornecidas pelo Núcleo de Vigilância, Prevenção e Controle de Fauna Sinantrópica (NVSIN) da Prefeitura Municipal de São Paulo

ID	Espécie	ID	Espécie
01U	<i>Rattus norvegicus</i>	55U	<i>R. norvegicus</i>
02U	<i>Rattus rattus</i>	56U	<i>R. norvegicus</i>
03U	<i>R. norvegicus</i>	57U	<i>R. rattus</i>
04U	<i>R. norvegicus</i>	58U	<i>R. rattus</i>
05U	<i>R. norvegicus</i>	59U	<i>R. norvegicus</i>
06U	<i>R. norvegicus</i>	60U	<i>R. norvegicus</i>
07U	<i>R. norvegicus</i>	61U	<i>R. norvegicus</i>
08U	<i>R. norvegicus</i>	62U	<i>R. rattus</i>
09U	<i>R. rattus</i>	63U	<i>R. norvegicus</i>
10U	<i>R. norvegicus</i>	64U	<i>R. norvegicus</i>
11U	<i>R. norvegicus</i>	65U	<i>R. norvegicus</i>
12U	<i>R. rattus</i>	66U	<i>R. rattus</i>
13U	<i>R. norvegicus</i>	67U	<i>R. norvegicus</i>
14U	<i>R. norvegicus</i>	68U	<i>R. norvegicus</i>
15U	<i>R. norvegicus</i>	69U	<i>R. norvegicus</i>
16U	<i>R. norvegicus</i>	70U	<i>R. norvegicus</i>
17U	<i>R. rattus</i>	71U	<i>R. rattus</i>
18U	<i>R. norvegicus</i>	72U	<i>R. norvegicus</i>
19U	<i>R. rattus</i>	73U	<i>R. norvegicus</i>
20U	<i>R. norvegicus</i>	74U	<i>R. norvegicus</i>
21U	<i>R. norvegicus</i>	75U	<i>R. rattus</i>
22U	<i>R. norvegicus</i>	76U	<i>R. norvegicus</i>
23U	<i>R. norvegicus</i>	77U	<i>R. norvegicus</i>
24U	<i>R. norvegicus</i>	78U	<i>R. norvegicus</i>
25U	<i>R. norvegicus</i>	79U	<i>R. norvegicus</i>
26U	<i>R. rattus</i>	80U	<i>R. rattus</i>
27	<i>R. norvegicus</i>	81U	<i>R. norvegicus</i>
28U	<i>R. norvegicus</i>	82U	<i>R. norvegicus</i>
29U	<i>R. norvegicus</i>	83U	<i>R. norvegicus</i>
30U	<i>R. norvegicus</i>	84U	<i>R. norvegicus</i>
31U	<i>R. norvegicus</i>	85U	<i>R. rattus</i>
32U	<i>R. norvegicus</i>	86U	<i>R. norvegicus</i>
33U	<i>R. norvegicus</i>	87U	<i>R. norvegicus</i>
34U	<i>R. rattus</i>	88U	<i>R. norvegicus</i>
35U	<i>R. norvegicus</i>	89U	<i>R. norvegicus</i>
36U	<i>R. norvegicus</i>	90U	<i>R. norvegicus</i>
37U	<i>R. norvegicus</i>	91U	<i>R. rattus</i>
38U	<i>R. rattus</i>	92U	<i>R. norvegicus</i>
39U	<i>R. norvegicus</i>	93U	<i>R. norvegicus</i>
40U	<i>R. norvegicus</i>	94U	<i>R. norvegicus</i>
41U	<i>R. norvegicus</i>	95U	<i>R. rattus</i>
42U	<i>R. rattus</i>	96U	<i>R. norvegicus</i>

43U	<i>R. norvergicus</i>	97U	<i>R. norvergicus</i>
44U	<i>R. norvergicus</i>	98U	<i>R. rattus</i>
45U	<i>R. norvergicus</i>	99U	<i>R. norvergicus</i>
46U	<i>R. norvergicus</i>	100U	<i>R. norvergicus</i>
47U	<i>R. norvergicus</i>	101U	<i>R. rattus</i>
48U	<i>R. rattus</i>	102U	<i>R. norvergicus</i>
49U	<i>R. norvergicus</i>	103U	<i>R. rattus</i>
50U	<i>R. norvergicus</i>	104U	<i>R. norvergicus</i>
51U	<i>R. norvergicus</i>	105U	<i>R. norvergicus</i>
52U	<i>R. norvergicus</i>	106U	<i>R. rattus</i>
53U	<i>R. rattus</i>	107U	<i>R. norvergicus</i>
54U	<i>R. norvergicus</i>	108U	<i>R. rattus</i>

:

APÊNDICE C – Informações de distribuição por localidade, gênero, idade e espécie dos morcegos utilizados neste trabalho fornecidos pelo serviço de Vigilância e Controle da Raiva no Estado de São Paulo (Instituto Pasteur). Os dados destacados em vermelho correspondem aos animais positivos para coronavírus (Escutanaire *et al.*, 2007); os em azul aos positivos para rotavírus (Salem *et al.*, 2010); e os destacados em cor verde que se apresentaram positivos para ambos os testes coronavírus e rotavírus.

ID	Local	Gênero	Idade	Espécie	Escutanaire <i>et al.</i> , 2007	Stephensen <i>et al.</i> , 1999	Chu <i>et al.</i> , 2011/Woo <i>et al.</i> , 2005	Salem <i>et al.</i> (2010)	Wang <i>et al.</i> , 1999
489	Campinas	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
2533	Limeira	F	A	<i>P. lineatus</i>	P	N	N	N	N
2266	Cajamar	F	A	<i>L. ega</i>	N	N	N	N	N
2367	Americana	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
491	Campinas	M	J	<i>P. lineatus</i>	N	N	N	N	N
2536	Limeira	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
2511	Várzea Paulista	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
2479	Jandira	F	A	<i>G. soricina</i>	P	N	N	P	N
2549	São Jose dos Campos	F	A	<i>A. lituratus</i>	P	N	N	N	N
2043	Guarujá	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1994	Itapeva	M	A	<i>H. velatus</i>	N	N	N	N	N
2042	Guarujá	F	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
2430	Serra negra	M	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
572	Itapetininga	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
2440	Osasco	M	A	<i>L. mordax</i>	N	N	N	N	N
1974	Louveira	F	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1564	Jacareí	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
0451	Ribeirão Preto	M	A	<i>H. velatus</i>	N	N	N	N	N
2104	Hortolândia	M	A	<i>C. planirostris</i>	P	N	N	N	N
2066	São Carlos	F	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N

1959	Atibaia	F	A	<i>E. furinalis</i>	N	N	N	N	N
2062	São Roque	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
2058	Itararé	M	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
2143	Santa Barbara do Oeste	M	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	P	N
1656	São Pedro	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
2363	Sales Oliveira	F	A	<i>S. liliium</i>	N	N	N	N	N
957	Valinhos	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	P	N
2052	Mogi Guaçu	M	A	<i>C. abrasus</i>	P	N	N	P	N
469	Ribeirão Preto	M	A	<i>M. rufus</i>	P	N	N	N	N
501	Ribeirão Preto	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
2152	São Bernardo do Campo	F	A	<i>T. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
595	Ribeirão Preto	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	P	N
1975	Louveira	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1960	Atibaia	M	A	<i>C. planirostris</i>	P	N	N	N	N
2102	Hortolândia	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
455	Louveira	F	J	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
2305	Barueri	M	A	<i>G. soricina</i>	N	N	N	N	N
2372	Presidente Prudente	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
2569	Sorocaba	F	A	<i>N. laticaudatus</i>	N	N	N	N	N
2070	Espírito Santo do Pinhal	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
2064	São Roque	M	A	<i>G. soricina</i>	N	N	N	N	N
2538	Limeira	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
2144	Santa Barbara do Oeste	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N

509	Ribeirão Preto	M	A	<i>N. laticaudatus</i>	N	N	N	N	N
517	Indaiatuba	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	P	N
2189	Santo André	F	A	<i>L. mordax</i>	N	N	N	N	N
140	Ribeirão Preto	M	A	<i>M. temminckii</i>	N	N	N	N	N
601	Jaguariúna	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
2017330 00240	Campinas	M	J	<i>P. discolor</i>	N	N	N	N	N
359	Sertãozinho	M	J	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1221	Caraguatatuba	M	J	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
750	Sumaré	F	J	<i>Cynomops sp.</i>	P	N	N	P	N
1425	Hortolândia	F	A	<i>C. brevicauda</i>	N	N	N	N	N
756	Buri	M	A	<i>D. rotundus</i>	P	N	N	N	N
1457	Matão	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
1449	Araraquara	M	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
822	Santa Fé do Sul	F	A	<i>M. rufus</i>	P	N	N	N	N
542	Votuporanga	F	J	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
2036	Varzea Paulista	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
2478	Valinhos	F	A	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
397	Caraguatatuba	F	A	<i>M. molossus</i>	P	N	N	N	N
1843	Santos	M	A	<i>P. bilabiatum</i>	P	N	N	N	N
760	Diadema	M	A	<i>G. soricina</i>	P	N	N	N	N
1232	São João da Boa Vista	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
437	Cosmópolis	M	J	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
1453	Araraquara	F	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
823	Americana	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N

555	Franca	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1897	Salesópolis	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
525	Salto	F	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
2460	Jaboticabal	F	A	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
2467	São Carlos	F	A	<i>N. laticaudatus</i>	N	N	N	N	N
802	Sertãozinho	F	J	<i>Eumops sp.</i>	N	N	N	N	N
1557	Paraibuna	M	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1437	Santo André	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
814	Buri	M	A	<i>D; rotundus</i>	N	N	N	N	N
425	Campinas	M	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
2408	São Jose dos Campos	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1520	Itapeirica da Serra	M	A	<i>A. lituratus</i>	P	N	N	N	N
1247	Guarujá	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
722	Valinhos	M	A	<i>T. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
634	Rio claro	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
481	Campinas	M	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1159	Santa Barbara do Oeste	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	P	N
400	Tatui	M	J	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
1042	Barretos	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
874	Caçapava	M	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
354	Ribeirão Preto	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
543	Santo André	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
1925	Mendonça	M	A	<i>M. molossus</i>	P	N	N	N	N
1737	Serra Negra	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N

655	Presidente Prudente	F	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
1419	São Bernardo do Campo	M	A	<i>T. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
1387	Taubaté	M	J	<i>E. auripendulus</i>	N	N	N	N	N
1367	Ocaucu	M	A	<i>D. rotundus</i>	N	N	N	N	N
2562	São José do Rio Pardo	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
1260	São Carlos	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
422	Itirapina	F	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
1682	Santo André	M	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1097	Ubatuba	F	J	<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
752	Mogi das Cruzes	F	A	<i>T. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
666	Parapuá	M	J	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
2173	Jacarei	M	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	P	N
1423	Marília	F	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
431	Campinas	M	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
1227	Americana	F	J	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
1766	Hortolândia	F	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
880	São Pedro	F	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1800	Paulinea	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
876	Caçapava	F	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
1699	Hortolândia	M	A	<i>C. brevicauda</i>	N	N	N	P	N
378	Ribeirão preto	F	J	<i>P. hastatus</i>	N	N	N	N	N
1268	Varzea Paulista	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
1931	Americana	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
1111	Paulinea	M	A	<i>G.soricina</i>	N	N	N	N	N

755	Atibaia	F	J	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
736	Itatiba	M	J	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
793	Jardinópolis	F	J	<i>P. discolor</i>	N	N	N	N	N
1658	São Pedro	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
1685	Hortolândia	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
1711	São Bernardo do Campo	M	A	<i>G. soricina</i>	N	N	N	P	N
587	Monguaguá	M	A	<i>C. greenhalli</i>	N	N	N	N	N
1225	São Carlos	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
1278	Martinópolis	F	A	<i>A. planirostris</i>	P	N	N	N	N
284	Campinas	F	A	<i>L. cinereus</i>	P	N	N	N	N
1369	Ocaucu	M	A	<i>D. rotundus</i>	N	N	N	N	N
1649	São João da Boa Vista	F	A	<i>G. soricina</i>	N	N	N	N	N
1759	Jaguariúna	M	A	<i>C. planirostris</i>	P	N	N	N	N
770	Conchal	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1704	Cerquilha	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
671	Cajamar	M	A	<i>C. greenhalli</i>	P	N	N	N	N
1012	Louveira	F	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
355	Campinas	M	A	<i>T. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
811	Buri	M	A	<i>D. rotundus</i>	N	N	N	N	N
1926	Maua	F	A	<i>C. perspicillata</i>	N	N	N	N	N
1116	Mococa	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
990	Espírito Santo do Pinhal	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1740	Presidente Prudente	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N

551	Rio claro	F	A	<i>L. mordax</i>	N	N	N	N	N
1659	Vinhedo	F	A	<i>C. planirostris</i>	N	N	N	N	N
1760	Ouro Verde	M	A	<i>L. ega</i>	N	N	N	N	N
1293	Sertãozinho	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	P	N
774	Conchal	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
1838	Itaí	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
386	Campinas	M	A	<i>H. velatus</i>	N	N	N	N	N
541	Taubaté	F	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1721	Americana	F	A	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
1451	Araraquara	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1263	Itatiba	M	A	<i>C. greenhalli</i>	P	N	N	N	N
1574	Taboão da Serra	M	A	<i>G. soricina</i>	N	N	N	N	N
799	Itabera	F	A	<i>D. rotundus</i>	N	N	N	N	N
709	Indaiatuba	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
900	São Bernardo do Campo	F	J	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
558	Ribeirão Preto	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
603	São João da Boa Vista	F	A	<i>E; perotis</i>	N	N	N	N	N
1205	Santana de Parnaíba	M	J	<i>Cynomops sp.</i>	N	N	N	N	N
568	São João da Boa Vista	M	J	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
402	Leme	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
1898	Bragança Paulista	M	A	<i>S. liliun</i>	N	N	N	N	N
1223	Cajamar	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1079	Marília	F	J	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
570	Hortolândia	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N

1220	Caraguatatuba	M	A	<i>E. auripendulus</i>	N	N	N	N	N
1575	Presidente Prudente		A	<i>Eumops sp.</i>	P	N	N	N	N
1408	Votorantim	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1023	Hortolândia	F	J	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
665	Parapuá	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
1923	Cubatão	F	A	<i>L. mordax</i>	N	N	N	N	N
821	São Pedro	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
468	Hortolândia	M	A	<i>G. soricina</i>	P	N	N	N	N
476	Rio claro	F	A	<i>L. mordax</i>	P	N	N	N	N
375	Campinas	F	A	<i>S. lilium</i>	N	N	N	N	N
461	Hortolândia	F	A	<i>L. mordax</i>	N	N	N	N	N
491	Valinhos	M	A	<i>M. nigricans</i>	P	N	N	N	N
290	Campinas	F	J	<i>M. nigricans</i>	N	N	N	N	N
404	Vinhedo	M	J	<i>Eptesicus sp.</i>	N	N	N	N	N
442	Tiete	F	J	<i>E. brasiliensis</i>	N	N	N	N	N
523	Atibaia	F	J	<i>Myotis sp.</i>	P	N	N	N	N
557	São Carlos	M	J	<i>M. molossus</i>	P	N	N	N	N
599	Cubatão	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
529	Salto	F	J	<i>Eumops sp.</i>	N	N	N	N	N
894	Buri	M	A	<i>M. rufus</i>	P	N	N	N	N
598	Cubatão	M	A	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
444	Caçapava	M	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
859	Oscar Bressani	M	A	<i>Desmodus rotundus</i>	P	N	N	N	N
843	Limeira	F	J	<i>M. molossus</i>	N	N	N	N	N
801	Sertãozinho	F	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N

651	Presidente Prudente	F	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
747	Pindamonhangaba	F	A	<i>C. abrasus</i>	N	N	N	N	N
322	Campinas	F	A	<i>A. lituratus</i>	N	N	N	N	N
1070	Embu	M	A		N	N	N	N	N
737	Itatiba	M	A	<i>C. planirostris</i>	P	N	N	N	N
848	Luis Antonio	F	A	<i>M. rufus</i>	N	N	N	N	N
824	Americana	M	J	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
832	Limeira	M	A	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
549	Rio Claro	F	A	<i>E. perotis</i>	N	N	N	N	N
812	Buri	M	A	<i>D. rotundus</i>	N	N	N	N	N
116	Ribeirão Preto	F	A	<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
698	Rio Claro	M	J	<i>E. glaucinus</i>	N	N	N	N	N
6955/09				<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
6945/09				<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
6650/09				<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
5024/16				<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
1110V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	P	N	N	N	N
2242V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
2470V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3017V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3173V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3174V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
2734V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
2939V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3175V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
5378V	Campinas			<i>Artibeus sp.</i>	P	N	N	N	N
3208V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	P	N	N	N	N

3848V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3088V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3015V	Jales			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
5731V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
2202V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N
3405V	Ribeirão Preto			<i>Artibeus sp.</i>	N	N	N	N	N