RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/01/2027.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – Campus de São José do Rio Preto

YASMIN LUISA NEVES LEMES GARCIA

MONITORAMENTO DE INFLUENZA AVIÁRIA E CIRCOVÍRUS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO E LITORAL DO PARANÁ

São José do Rio Preto

2025

YASMIN LUISA NEVES LEMES GARCIA

MONITORAMENTO DE INFLUENZA AVIÁRIA E CIRCOVÍRUS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO E LITORAL DO PARANÁ

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Microbiologia.

Área de Concentração: Virologia

Orientadora: Profa. Dra. Paula Rahal

Coorientadora: Profa. Dra. Marília de Freitas Calmon

São José do Rio Preto

2025

G216m

Garcia, Yasmin

Monitoramento de Influenza Aviária e Circovírus na região de São José do Rio Preto e Litoral do Paraná / Yasmin Garcia. -- São José do Rio Preto, 2025

75 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Paula Rahal

Coorientadora: Marília Calmon

1. Monitoramento. 2. Influenza Aviária. 3. Circovírus. 4. Mamíferos. 5. Aves. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

A presente pesquisa de monitoramento impacta significativamente por se tratar de análises de aves e mamíferos para presença viral, em aves e mamíferos que não apresentavam sinais de infecção clínica ou histopatológica por Influenza Aviária ou Circovírus. No Caso da Influenza Aviária, confirma a presença do subtipo altamente patogênico H5N1 em uma ave do litoral do Paraná. Enquanto que no caso do Circovírus, poucos estudos são encontrados na literatura abrangendo tantas espécies aviárias como abordado nesse estudo, permitindo uma nova perspectiva sobre a presença dos vírus nas espécies aviárias e novos possíveis hospedeiros. Ambos os resultados são importantes na realização do monitoramento, mitigação de impactos e preservação da biodiversidade. Por fim, o subtipo H5N1 do clado 2.3.4.4b é um grande risco para saúde animal, assim como para saúde humana, levando em consideração o aumento dos casos de infecções.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This monitoring research has a significant impact because it analyzes birds and mammals for viral presence, in birds and mammals that did not show clinical or histopathological signs of infection by Avian Influenza or Circovirus. In the case of Avian Influenza, it confirms the presence of the highly pathogenic H5N1 subtype in a bird from the coast of Paraná. In the case of Circovirus, few studies are found in the literature covering as many avian species as addressed in this study, allowing a new perspective on the presence of viruses in avian species and new possible hosts. Both results are important for monitoring, mitigating impacts and preserving biodiversity. Finally, the H5N1 subtype of clade 2.3.4.4b is a major risk to animal health, as well as to human health, considering the increase in cases of infection.

YASMIN LUISA NEVES LEMES GARCIA

MONITORAMENTO DE INFLUENZA AVIÁRIA E CIRCOVÍRUS NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO E LITORAL DO PARANÁ

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Mestra em Microbiologia.

Área de Concentração: Virologia

Data da defesa: 24/01/2025

Banca Examinadora:

_____

Profa. Dra. Paula Rahal
UNESP – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

_____

Prof. Dr. Guilherme Rodrigues Fernandes Campos
FAMERP - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

_____

Prof. Dr. Jansen de Araujo
USP – Universidade de São Paulo

Dedico este trabalho à minha família, ao qual sou imensamente grata por todo amor, apoio e orientação.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por todas as bênçãos e pelas pessoas incríveis que colocou em meu caminho. Não haveria nada, se não houvesse o senhor a minha frente para me guiar e ao meu lado para me proteger.

À minha família, meu pai, minha mãe, minha irmã e meu parceiro, não existem palavras no mundo que possam ser escritas agora que expressem a quão grata eu sou por ter vocês na minha vida. Eu os amo imensamente.

Ao IBILCE, minha trajetória acadêmica foi transformada no momento em que caminhei pelos seus corredores. Este lugar me moldou, me fez crescer como pessoa e como profissional, me ensinando a sempre buscar o melhor em mim.

À minha orientadora, Profa. Dra. Paula Rahal, agradeço pelos ensinamentos e pela confiança. Sua orientação não só me aprimorou profissionalmente, mas também me fez admirar ainda mais a sua pessoa. Sou muito grata pelo apoio constante ao longo desta jornada.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Marília de Freitas Calmon, minha sincera gratidão pelas discussões enriquecedoras, pelas orientações e por ter me ajudado a esclarecer tantas dúvidas ao longo deste processo.

Ao Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa, agradeço pela paciência e generosidade em compartilhar seu conhecimento comigo. O apoio e as lições que me proporcionou foram essenciais, e, pode ter certeza, o café não faltará, como prometido, logo mais à tarde.

Às minhas queridas amigas e companheiras de laboratório Ana Júlia, Camila, Dayla, Isabella, Pâmela, Paola e Thalissa. Agradeço por todos os momentos leves que compartilhamos, mesmo nos dias mais desafiadores. Sei que nem sempre sou a pessoa mais calma ou confiante, mas agradeço de coração por sempre tentarem me ajudar a ser uma versão melhor.

Aos professores Prof. Dr. João Pessoa Araújo Junior, Profa. Dra. Helena Lage, Prof. Dr. Edison Luiz Durigon, Profa. Dra. Daniela Bruna Leal de Oliveira Durigon e Prof. Dr. Fernando Rosado Spilki, agradeço pela colaboração e pelo apoio financeiro, fundamentais para a realização deste trabalho.

Por fim, este trabalho foi possível graças ao apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, a quem sou muito grata.

“Uma pequena teoria. As pessoas só observam as cores do dia no começo e no fim, mas, para mim, está muito claro que o dia se funde através de uma multidão de matizes e entonações, a cada momento que passa. Uma só hora pode consistir em milhares de cores diferentes. Amarelos céreos, azuis borrifados de nuvens. Escuridões enevoadas. No meu ramo de atividade, faço questão de notá-los.”

(Zusak, 2014, p. 10)

RESUMO

Os vírus da Influenza Aviária (AIV) e os Circovírus (CV) são patógenos virais que infectam diversas espécies, representando riscos significativos para a saúde de aves e mamíferos. Demais, em vista da lacuna do conhecimento relacionados a epidemiologia molecular desses vírus, o principal objetivo do estudo foi analisar amostras de *swabs* de aves da região de São José do Rio Preto, e aves e mamíferos do litoral do Paraná para presença de AIV e/ou CV. As amostras de aves e mamíferos de ambos os locais analisados para presença de AIV por Transcrição Reversa da PCR em tempo real e para o controle endógeno beta-actina. Em casos positivos para AIV amostra foi submetida ao Sequenciamento de Nova Geração (NGS). Por outro lado, para identificação do CV, foi realizado uma Nested-PCR e em casos considerados positivos, as amostras seguiram para sequenciamento pela técnica de Sanger. Em relação aos resultados, três espécimes do litoral do Paraná foram positivas em PCR em tempo real para AIV (*Thalasseus acuflavidus*, *Sula leucogaster* e *Otaria flavescens*). Identificando por NGS o subtipo altamente patogênico AIV H5N1 clado 2.3.4.4b em um Atobá-pardo (*Sula leucogaster*). Enquanto que nas amostras testadas para CV, os 24 espécimes positivas (4%) foram sequenciadas, obtendo identidades com os subtipos *columbid circovirus* (CoCV), *pigeon circovirus* (PiCV), *beak and feather disease circovirus* (BFDV), *porcine circovirus 2* (PCV2), *gull circovirus* (GuCV) and *raven circovirus* (RaCV). Os resultados destacam a circulação de AIV em amostras de aves e mamífero, que não apresentavam sinais clínicos e/ou histopatológicos sugestíveis a infecção por AIV, identificando o subtipo HPAIV H5N1, no litoral do Paraná. Assim como, destaca a diversidade de subtipos de CV encontrados em amostras de diferentes aves, que podem ser indicativos de novas transmissões e hospedeiros. A AIV e CV impactam a saúde pública e veterinária e são relevantes para conservação da biodiversidade. O contínuo monitoramento de animais que não apresentam sinais de infecção sugestíveis para AIV, podem trazer informações significativas sobre a circulação, rotas de transmissão e possíveis novos hospedeiros.

Palavras-chave: circovírus; influenza aviária; monitoramento; aves; mamíferos.

ABSTRACT

Avian influenza viruses (AIV) and circoviruses (CV) are viral pathogens that infect several species, posing significant health risks to birds and mammals. Furthermore, given the lack of knowledge related to the molecular epidemiology of these viruses, the main objective of the study was to analyze swab samples from birds from the São José do Rio Preto region, and birds and mammals from the coast of Paraná for the presence of AIV and/or CV. Samples from birds and mammals from both locations were analyzed for the presence of AIV by real-time reverse transcription-PCR and for the endogenous control beta-actin. In cases positive for AIV, the sample was submitted to next-generation sequencing (NGS). On the other hand, for CV identification, a nested-PCR was performed and in cases considered positive, the samples were sequenced by the Sanger technique. Regarding the results, three specimens from the coast of Paraná were positive in real-time PCR for AIV (Thalasseus acuflavidus, Sula leucogaster and Otaria flavescens). Identifying by NGS the highly pathogenic subtype AIV H5N1 clade 2.3.4.4b in a Brown Booby (Sula leucogaster). While in the samples tested for CV, the 24 positive specimens (4%) were sequenced, obtaining identities with the subtypes columbid circovirus (CoCV), pigeon circovirus (PiCV), beak and feather disease circovirus (BFDV), porcine circovirus 2 (PCV2), gull circovirus (GuCV) and raven circovirus (RaCV). The results highlight the circulation of AIV in samples from birds and mammals, which did not present clinical and/or histopathological signs suggestive of AIV infection, identifying the subtype HPAIV H5N1, on the coast of Paraná. It also highlights the diversity of CV subtypes found in samples from different birds, which may be indicative of new transmissions and hosts. AIV and CV impact public and veterinary health and are relevant for biodiversity conservation. Continuous monitoring of animals that do not show signs of infection suggestive of AIV can provide significant information about circulation, transmission routes and possible new hosts.

Keywords: circovirus; avian influenza; monitoring; birds; mammals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da partícula viral Influenza A e B. 4
Figura 2. Modelo da replicação viral do vírus Influenza A. 5
Figura 3. Distribuição global do vírus Influenza A com potencial zoonótico, observado no período de 1 de janeiro a 30 de setembro de 2024. Os pontos vermelhos são eventos de surtos de Influenza A. 6
Figura 4. Circovírus. A. Estrutura do vírion. B. Organização do genoma. 8
Figura 5. Modelo da replicação viral do Circovírus. 9
Figure 6. The geographical locations of the cities where the animals were collected are situated in the northwest region of São Paulo and the coast of Paraná, Brazil (panel 1A). Panel 1B lists the 38 sampled cities in São Paulo and the 5 cities in Paraná. Panel 1C shows the sample cities in São Paulo, along with the number of samples collected. Panel 1D positive animals and sample collection situation for detection of Influenza A virus between the cities of Matinhos and Pontal do Paraná, state of Paraná. Panel 1E (AIV positive): 1. Brown booby (*Sula leucogaster*). 2. Cabot's Tern (*Thalasseus acuflavidus*). 3. Patagonian sea lion (*Otaria flavescens*). Panel 1F displays symbols indicating the number of animals collected by geographic region, with a color bar representing the positivity rate for AIV. 25
Figure 7. A phylogenetic tree based on nucleotide sequences between the detected A/Sula_leucogaster/Brazil-PR/A0001-IBTEC/2023 and reference strains. Bootstrap values (> 50%) are shown at each node of the tree using 1,000 replicates. The scale bar below the tree represents a genetic distance of 0.02 nucleotide substitutions per site. The xxx identified in this study is indicated in red. Sequences are labelled using GenBank accession numbers 30
Figure 8. The geographical locations of the cities where the birds were collected are situated in the northwest region of São Paulo and the coast of Paraná, Brazil (panel 1A). Panel 1B shows the sample cities in São Paulo, along with the number of samples collected and the number of birds positive for CV. Panel 1C lists the 49 sampled cities in São Paulo and the 6 cities in Paraná. Panel 1D presents the sampled cities in Paraná, along with the number of samples collected and the number of birds positive for CV. Panel 1E displays symbols indicating the number of birds collected by geographic region, with a color bar representing the positivity rate for CV. 47

LISTA DE TABELAS

Table 1. Classification and abundance of avian species sampled in the northwest region of São Paulo 22

Table 2. Classification and abundance of avian species and mammals sampled in the coast of Paraná 26

Table 3. Classification and data of specimens with positive samples for AIV by RT-qPCR from the Coast of Paraná. **Stage**. Refers to the Carcass Stage. 28

Table S4. Cities from which avian species were rescued and sent to the São José do Rio Preto Zoobotanical to receive veterinary clinical treatment 37

Table S5. Cities from which avian species were rescued and sent to the Ecology and Conservation Laboratory of the Federal University of Paraná to receive veterinary clinical treatment 38

Table 6. classification and abundance of avian species sampled in the northwest region of São Paulo. 44

Table 7. Classification and abundance of avian and mammals species sampled in the coast of Paraná 48

Table 8. Positive avian species characterization and virus identity. 50

Table S9. Cities from which avian species were rescued and sent to the São José do Rio Preto Zoobotanical Garden to receive veterinary clinical treatment. 56

Table S10. Cities from which avian species were rescued and sent to the Ecology and Conservation Laboratory of the Federal University of Paraná to receive veterinary clinical treatment. 57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIV	Influenza Aviária
BFDV	Doença do Bico e das Penas
BHQ	Black Hole Quencher
BLASTn	Nucleotide Blast program
bp	Pares de Bases
BSL 3	*Biosafety laboratory level 3* - Laboratório de Biosegurança Nível 3
CaCV	Circovírus de Canários
Cap	Proteína do Capsídeo
CI	Intervalo de Confiança
CRESS DNA	*Eukaryotic Circular Rep-Encoding Single-Stranded DNA* - DNA de fita simples com codificação de representação circular eucariótica
CoCV	Circovírus de Columbídeos
CV	Circovírus
CV	Circovírus
DNA	*Deoxyribonucleic acid* - Ácido desoxirribonucleico
dsDNA	*Double strand of DNA* - DNA de fita dupla
FAM	6-carboxifluoresceína
FAO	*Food and Agriculture Organization of the United Nations* - Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas
GoCV	Circovírus de Ganso
GsGD	Linhagem do H5N1 A/goose/Guangdong/1/1996
GuCV	Circovírus de Gaivotas
HA	Hemaglutinina
HA0	Precursos da Hemaglutinina
HA1	Subunidade da Hemaglutinina com o domínio receptor
HA2	Subunidade de Hemaglutinina com o peptídeo de fusão

HEX	6-Hexachloro-fluorescein
HPAI	Alta Patogeneicidade
HPAIV	Influenza Aviária de Alta Patogeneicidade
M1	Proteína de Matriz
M2	Proteína de Membrana
MAPA	Ministério da Agricultura e Pecuária
NA	Neuraminidase
NEP	Proteína de Exportação Nuclear
NGS	Sequenciamento de Nova Geração
NLSs	Sinais de Localização Nuclear
NP	Nucleoproteína Viral
nPCR	Nested – Reação em Cadeia da Polimerase
NS1	Proteína Não Estrutural
nt	Nucleotídeos
OMSA	Organização Mundial de Saúde Animal
ORF C1	*Open Reading Frame Encoding Capsid Protein* - Quadro de Leitura Aberto que Codifica a Proteína do Capsídeo
ORF V1	*Open Reading Frame Encoding the Replicase Protein* - Quadro de Leitura Aberto que Codifica a Proteína da Replicase
ORFs	*Open Reading Frames* - Quadros de Leitura Abertos
PA	Polimerase Ácida
PB1 e PB2	Proteína Básica
PCV	Circovírus Suíno
PCV1	Circovírus Suíno 1
PCV2	Circovírus Suíno 2
PiCV	Circovírus de Pombos
PMP-BS	Projeto de Monitoramento da Bacia de Santos

pH	potencial Hidrogeniônico
RaCV	Circovírus de Corvos
RCR	Complexo de Proteína Iniciadora
Rep	Replicase
REP	Complexo da Replicase
RNA	Ácido ribonucleico - *Ribonucleic acid*
RNAm	Ácido ribonucleico mensageiro
RT-qPCR	Transcrição Reversa da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real
SPF	Especificamente Livre de Patógenos
ssDNA	*Double stranded DNA* - DNA de fita simples
-ssRNA	*Negative single-stranded RNA* - RNA de fita simples com polaridade negativa
TAMRA	6-carboxitetrametilrodamina
TEB	Solução Tris-Base
UFPR	Universidade Federal do Paraná
vRNA	RNA Viral
vRNP	Complexo de Ribonucleoproteína Viral
RCR	Replicação Circulo Rolante

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO *1*

1.1 MONITORAMENTO VIRAL: RELAÇÃO ENTRE BIODIVERSIDADE AVIÁRIA E PATÓGENOS VIRAIS **1**

1.2 HISTÓRICO DA INFLUENZA AVIÁRIA **2**

1.2.1 Etiologia 3

1.2.2 H5N1 5

1.3 HISTÓRICO DO CIRCOVÍRUS AVIÁRIO **7**

1.3.1 Etiologia 8

2 OBJETIVOS *10*

3 REFERÊNCIAS *11*

4. BIRDS AND MAMMAL POSITIVE FOR INFLUENZA A VIRUS IN THE BRAZILIAN … *17*

5. *POTENCIAL NEW AVIAN SPECIES AS CARRIERS OF THE CIRCOVIRUS SUBTYPES, BRAZIL* *39*

6.CONCLUSÃO *58*

1 INTRODUÇÃO

1.1 Monitoramento viral: Relação entre Biodiversidade Aviária e Patógenos Virais

O território brasileiro é conhecido pela sua grande biodiversidade de animais, com destaque para as aves, das quais foram reconhecidas 1971 espécies, somando 33 ordens, 102 famílias, 85 subfamílias e 732 gêneros (PACHECO et al., 2021). Sendo a Mata Atlântica um dos biomas com a maior diversidade de aves (DA SILVA; DE SOUSA; CASTELLETTI, 2004; MYERS et al., 2000). O Brasil e a região Neotropical são símbolos da riqueza de espécies aviárias, no entanto, essa diversidade encontra-se ameaçada, refletindo em altos números de espécies em risco de extinção (DEVELEY, 2021).

A perda da biodiversidade aviária, incluindo a diminuição de espécies-chave, tende a aumentar a transmissão de patógenos, elevando a incidência de doenças em não hospedeiros, especialmente quando essa perda eleva a densidade de novos hospedeiros competentes (KEESING et al., 2010). Um exemplo pode ser observado no caso do vírus do Nilo Ocidental, no qual estudos indicam que a baixa diversidade de passeriformes, que são hospedeiros do vírus, está associada ao aumento de casos de encefalite do Nilo Ocidental em humanos nos Estados Unidos (ALLAN et al., 2009; EZENWA et al., 2005; KEESING et al., 2010; SWADDLE; CALOS, 2008).

No cenário de várias espécies de hospedeiros animais acometidas por patógenos, destaca-se os Vírus de Influenza Aviária (AIV), surgem como exemplos de patógenos zoonóticos que circulam em diferentes animais, com altas taxas de mortalidade, especialmente em aves e, em alguns casos, em seres humanos (MEDINA; GARCÍA-SASTRE, 2011). Os casos de AIV, representam um impacto significativo, tanto na saúde quanto na economia (MOLINARI et al., 2007). Além disso, existe pouca dúvida sobre a importância da vigilância para AIV em todo o mundo, sendo impulsionada pela ameaça do potencial pandêmico da Influenza Aviária Altamente Patogênica (HPAIV) H5N1 (SENNE, 2010).

É crucial reconhecer que os animais selvagens são reservatórios de uma variedade de doenças infecciosas com potencial zoonótico (KARESH et al., 2012; VAN DOORN, 2014). Sendo assim, os hospedeiros naturais de zoonoses geralmente apresentam poucos sinais após a infecção, contribuindo para um aumento dos riscos de transmissão interespecífica, ampliando a vulnerabilidade de espécies suscetíveis (JAX et al., 2021; MANDL et al., 2015). Além do mais, com a proximidade entre humanos e a vida selvagem devido a expansão das áreas habitadas, representa um fator que aumenta a probabilidade de vírus zoonóticos “saltarem” de uma espécie a outra (GIBB et al., 2020).

Os *Circovírus* (CV), pertencem ao grupo dos vírus de DNA de fita simples com codificação de representação circular eucariótica (DNA CRESS), grupo este de vírus que codificam uma proteína associada a replicação (Rep) (ZHAO et al., 2019a). Diferentemente do AIV, os DNA CRESS apresentam uma falta de afiliação com doenças humanas, resultando em um certo grau de negligência por agências de financiamento, que direcionam esforços para vírus patogênicos conhecidos (ZHAO et al., 2019a). No entanto, apesar dos vírus pertencentes ao gênero *Circovírus* estarem geralmente associados a animais, recentemente um caso positivo de CV no sangue humano foi reportado, mas não apresentava os sinais clínicos comuns encontrados em animais (DA SILVA et al., 2024; PÉROT et al., 2023).

Por fim, torna-se evidente a importância da vigilância em indivíduos que não apresentam sinais de enfermidade, permitindo a detecção precoce de surtos, intervenções apropriadas e aprofundamento no entendimento sobre transmissão dos agentes infecciosos (AMBROSIS et al., 2021; DE JONG et al., 2024; STURROCK et al., 2013). Nesse sentido, a preservação da biodiversidade e o controle da propagação de patógenos estão intrinsecamente interligados, com o monitoramento contínuo funcionando estrategicamente para ambos os objetivos. Posto isto, a investigação aqui apresentada, direciona a vigilância molecular de espécies aviárias e mamíferos que não apresentam sinais clínicos de infecção por AIV ou CV, reforçando a relevância de conduzir esse tipo de monitoramento em várias regiões do país.

1.2 Histórico da Influenza aviária

Em 1932, o vírus da gripe foi pela primeira vez isolado em laboratório, um grande avanço na história da doença que passa a ter registro e confirmação laboratorial. No entanto, vários registros de pandemias e epidemias nos séculos anteriores ao isolamento do vírus, foram realizados por meio das características da doença e sintomas, como febre de três dias, dor muscular e fraqueza (POTTER, 2001). Em 1995, por meio da autópsia de material arqueológico, foi possível identificar o subtipo H1N1 como causador da pandemia da “Gripe espanhola”, na qual estima-se que contribuiu para morte de cerca de 50 milhões de pessoas (DUNNING; THWAITES; OPENSHAW, 2020; LYCETT; DUCHATEL; DIGARD, 2019).

Os casos de AIV, exceto as infecções humanas por vírus aviários, foram causados por descendentes do vírus de 1918-1919, tanto os derivados (*drift*) como H5N1, quanto os reorganizados (*shift*) como H2N2. Devido a isso, a pandemia da Gripe espanhola pode ser considerada por alguns como a “mãe de todas as pandemias” (JEFFERY K. TAUBENBERGER; DAVID M. MORENS, 2006).

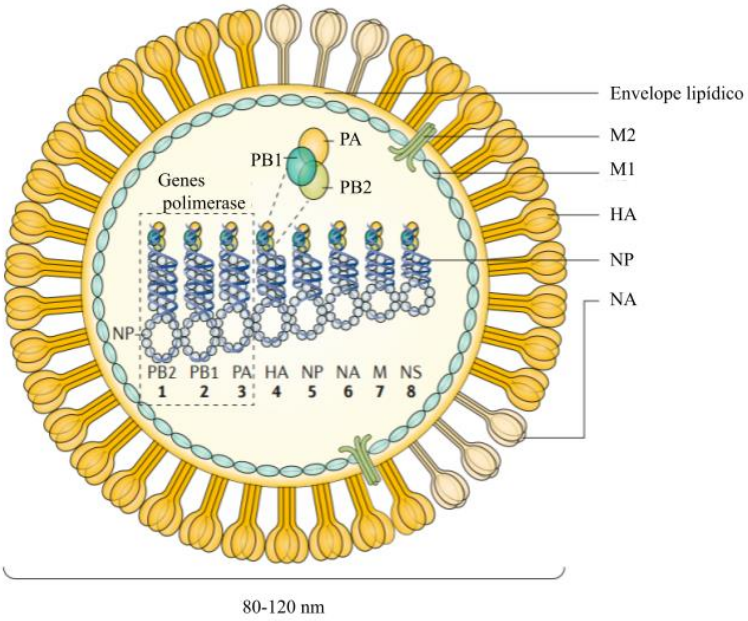
Desde então, ocorreram três grandes pandemias de AIV: a “Gripe asiática” em 1957 com H2N2, a “Gripe de Hong Kong” em 1968 com H3N2 e a “Pandemia do H1N1” em 2009, também com o H1N1 (KILBOURNE, 2006; LYCETT; DUCHATEL; DIGARD, 2019). Em relação as epidemias de AIV, ocorrem repentinamente, desaparecendo em semanas ou meses, são eventos anuais comuns que geralmente ocorrem no inverno, mas em áreas de umidade contínua, pode ocorrer durante todo o ano (POTTER, 2001).

1.2.1 Etiologia

Os vírus Influenza infectam uma ampla variedade de espécies, sendo um importante patógeno respiratório humano (MALIK; ZHOU, 2020). Este vírus pertence à família *Orthomyxoviridae*, com 80-120 nm de diâmetro, envelopados e com genoma de RNA fita simples de sentido-negativo segmentado (-ssRNA), divididos em quatro gêneros: *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus* e *Deltainfluenzavirus* (FRYMUS et al., 2021; PARRY et al., 2020; UYEKI et al., 2020). Os AIV pertencem aos *Alphainfluenzavirus*, sendo ainda classificados com base nas glicoproteínas Hemaglutinina (HA) e Neuraminidase (NA) presentes no envelope lipídico, atualmente existem 18 HA e 11 NA (FRYMUS et al., 2021; WEBSTER; GOVORKOVA, 2014; WILLE; HOLMES, 2020).

Os AIV apresentam oito segmentos do seu genoma (Figura 1.), que codificam subunidades de RNA polimerase, glicoproteínas virais (HA e NA), nucleoproteína viral (NP), proteína de matriz (M1), proteína de membrana (M2), proteína não estrutural (NS1) e a proteína de exportação nuclear (NEP) (KRAMMER et al., 2018; MALIK; ZHOU, 2020). Cada segmento do seu genoma existe na forma de Complexos de ribonucleoproteína viral (vRNP), consistindo no RNA viral (vRNA) associada com a NP e as proteínas polimerases virais: proteínas básicas (PB1 e PB2) e a polimerase ácida (PA) (MALIK; ZHOU, 2020).

Figure 1. Representação da partícula viral Influenza A e B.



Fonte: KRAMMER et al. (2018) adaptado.

No ciclo replicativo viral (Figura 2.), a HA se liga ao ácido siálico encontrado na superfície da célula hospedeira, o precursor HA0 da HA é constituído de duas subunidades: HA1 que contém o domínio de ligação ao receptor, e HA2 que contém o peptídeo de fusão (SAMJI, 2009; SKEHEL; WILEY, 2000). Após a ligação, o vírus entra na célula em um endossomo, cujo interior possui um pH baixo, que desencadeia a fusão das membranas virais e endossômicas, devido a uma mudança conformacional na HA0 e a abertura de um canal iônico seletivo de prótons, acidificando o núcleo viral, provocando a liberação do vRNP (PINTO; LAMB, 2006; RUST et al., 2009; SAMJI, 2009a; SCHOLTE et al., 2011; WHITE; HELENIUS; GETHING, 1982).

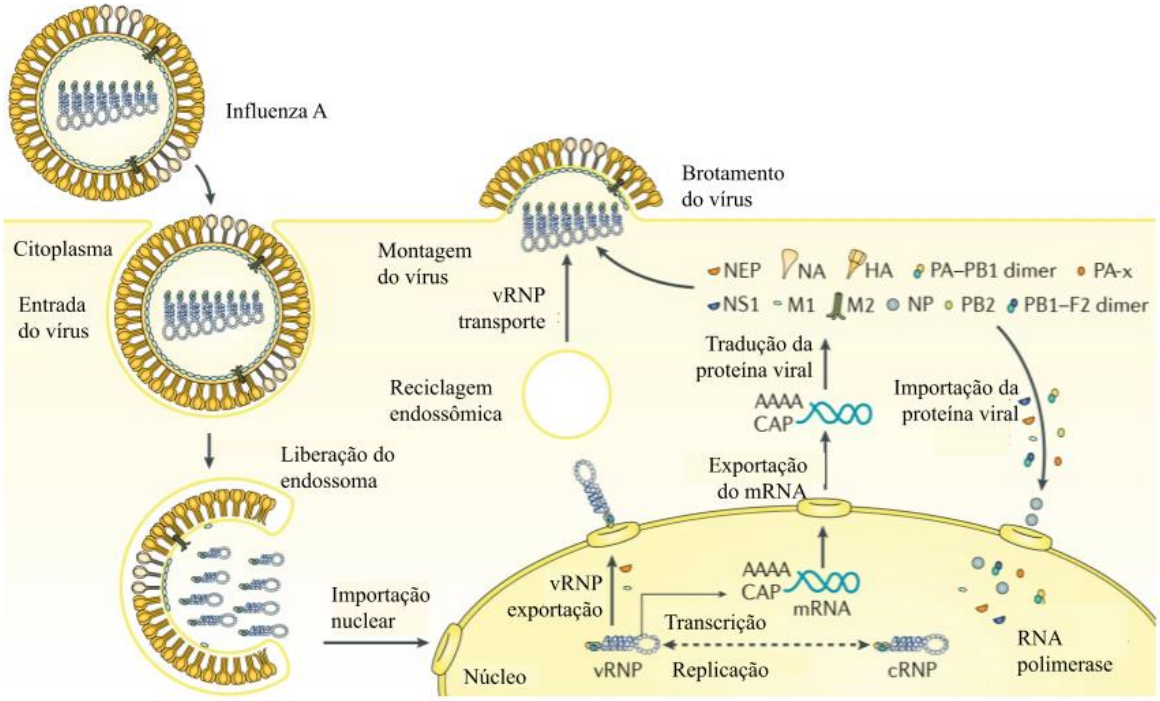
A síntese do mRNA (RNA mensageiro) e replicação do vírus ocorre no núcleo, portanto o vRNP liberado no citoplasma entra no núcleo, as proteínas virais que o compõem (PB1, PB2, PA e NP), possuem sinais de localização nuclear (NLSs) que se ligam a mecanismos de importação nuclear (SAMJI, 2009). O genoma viral (-)ssRNA, incialmente precisa ser convertido em RNA de sentido positivo, que quando encaminhadas ao citoplasma atuam como RNAm na síntese de proteínas, e quando encaminhadas ao núcleo atuam como modelo para produção de RNAs virais sintetizados pela RNA polimerase dependente de RNA, ao final apenas vRNPs são exportados pra fora do núcleo (NAYAK et al., 2009; SAMJI, 2009)

Após os vRNPs deixarem o núcleo, são formados os vírions que serão liberados no ambiente extracelular, utilizando a membrana plasmática da célula hospedeira para formar as

partículas virais que brotam da superfície celular (MALIK; ZHOU, 2020; SAMJI, 2009). Uma etapa importante que deve ocorrer na partícula viral recém-formada é a clivagem do resíduo de ácido siálico das glicoproteínas e glicolipídeos para que seja liberada (SAMJI, 2009). Por fim, um ponto a ser abordado sobre o AIV, ocorre devido as formas epidemiológicas da gripe que são resultado de mecanismos de variação antigênica nas glicoproteínas da superfície do vírus, durante a replicação, como *drift* e *shift* (PAULES; SUBBARAO, 2017).

A deriva antigênica (*antigenic drift*) é a principal causa de mutações em AIV, resultado da interação entre o vírus influenza e a resposta imune do hospedeiro (WEBSTER; GOVORKOVA, 2014). A substituição de aminoácidos das glicoproteínas HA e NA, fornece a vantagem do vírus emergir como uma nova cepa epidêmica, substituindo a circulante, com maior probabilidade de escape imunológico (BONI, 2008; WEBSTER; GOVORKOVA, 2014). Enquanto que as mudanças antigênicas (*antigenic shift*) são raras, ocorrem por um rearranjo ou introdução de um novo segmento HA e/ou NA (DAWOOD; RAO, 2023; WEBSTER; GOVORKOVA, 2014).

Figure 2. Modelo da replicação viral do vírus Influenza A.



Fonte: KRAMMER et al. (2018) adaptado.

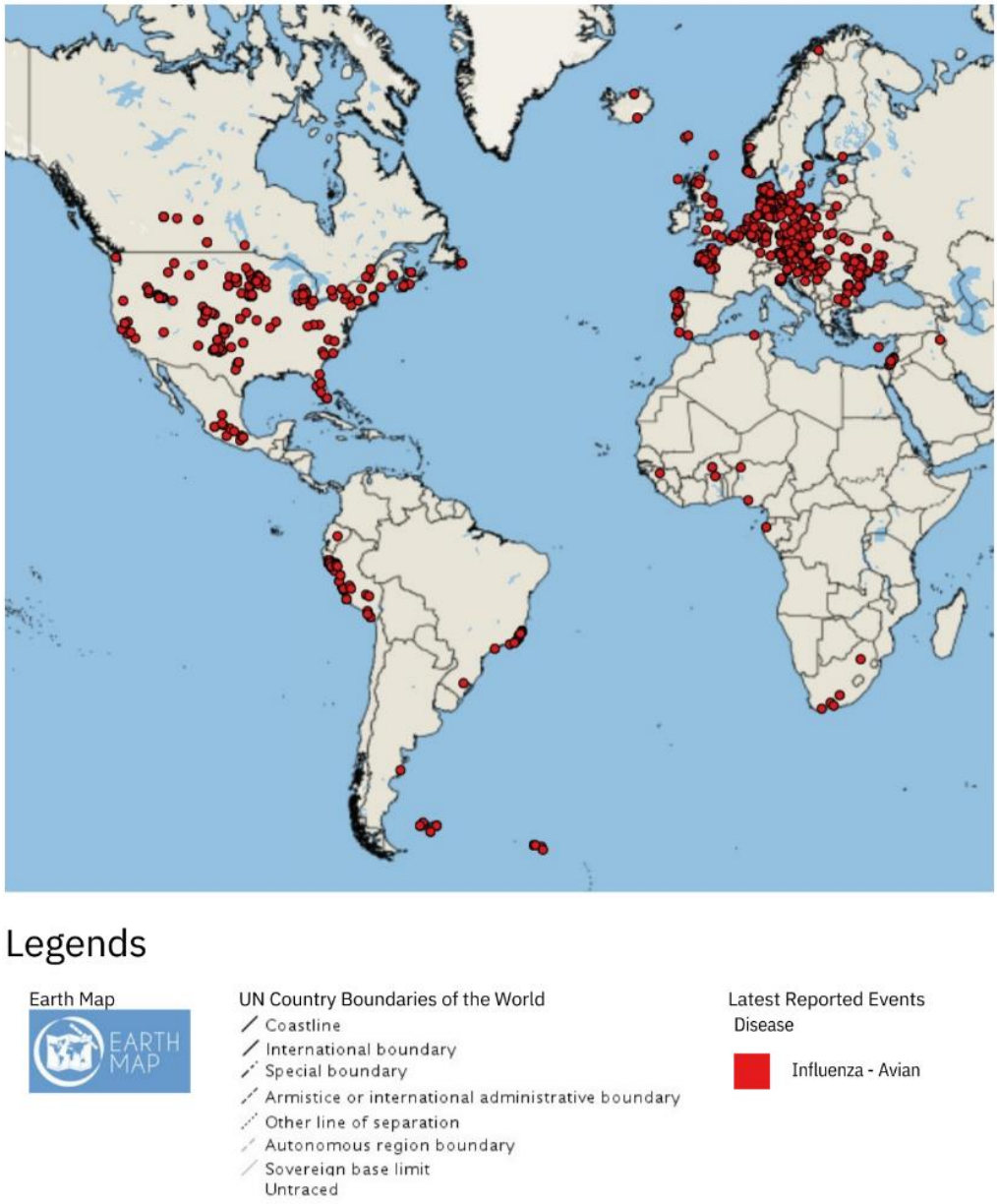
1.2.2 H5N1

A Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA) publicou uma declaração no início do ano de 2023 alertando sobre os surtos do subtipo de AIV H5N1 em diversos países,

resultando em um aumento da taxa de mortalidade de diversos animais, principalmente aves (WOAH, 2023). Em 2024, um ano depois do primeiro alerta em relação ao surto de gripe aviária, a Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas (*Food and Agriculture Organização of the United Nations*, FAO) publicou uma atualização da situação.

Na atualização abrangia os AIV com potencial zoonótico (Figura 3.), de alta patogenicidade foram reportados até outubro 1.016 surtos/eventos causados por H5Nx (89), H5N1 (895), H2N2 (1), H5N5 (28) e HxNx (3), abrangendo Europa, Américas, Asia e Pacífico, África, Oriente Médio e sub/Antártica (FAO, 2024).

Figure 3. Distribuição global do vírus Influenza A com potencial zoonótico, observado no período de 1 de janeiro a 30 de setembro de 2024. Os pontos vermelhos são eventos de surtos de Influenza A.



Fonte: FAO (2024).

No Brasil, o primeiro caso foi registrado em 15 de maio de 2023. O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) detectou AIV subtipo H5N1 em duas espécimes de trinta-réis-de-bando (*Thalasseus acuflavidus*) no litoral do Espírito Santo. No dia seguinte a primeira detecção, o MAPA confirmou um caso adicional em um atobá-pardo (*Sula leucogaster*) no mesmo estado, desde então, o Serviço Veterinário Oficial identificou 166 focos (MAPA, 2023b).

O HPAIV H5N1 clado 2.3.4.4b vem afetando uma ampla gama de aves selvagens e domésticas, linhagem do A/goose/Guangdong/1/1996 (Gs/GD) (CHAROSTAD et al., 2023; DUAN et al., 2007; SOBOLEV et al., 2021). Desde então, variantes surgiram de múltiplas recombinações do Gs/GD (DUAN et al., 2007; GUAN et al., 2002). A faixa de hospedeiros do HPAIV H5N1 inclui gatos, cães, raposas, focas, leopardos, mustelídeos, gambás, tigres, leões, pikas, lontras, doninhas, botos, guaxinins, civetas, texugos, ursos, golfinhos, martas-de-pedra/faia, coiotes, peixes, etc (ABDELWHAB; METTENLEITER, 2023; CHAROSTAD et al., 2023).

1.3 Histórico do Circovírus aviário

Os *Circovírus* (CV) animais foram pela primeira vez encontrados em 1974, como contaminantes da linhagem celular contínua de rim de porco (PK) 15 (ATCC-CCL31) (TRISCHER et al., 1974 apud TODD et al., 2001). Após oito anos da descoberta, demonstrou-se que se tratava de um vírus com genoma ssDNA, medindo aproximadamente 1.76 quilobases com cerca de 17-1.3 nanómetros de diâmetro, sendo proposto o nome circovírus suínos (PCV), em reconhecimento por ter sido o primeiro vírus de ssDNA circular encontrado em animais (TISCHER; GELDERBLOM; VETTERMANN, 1982).

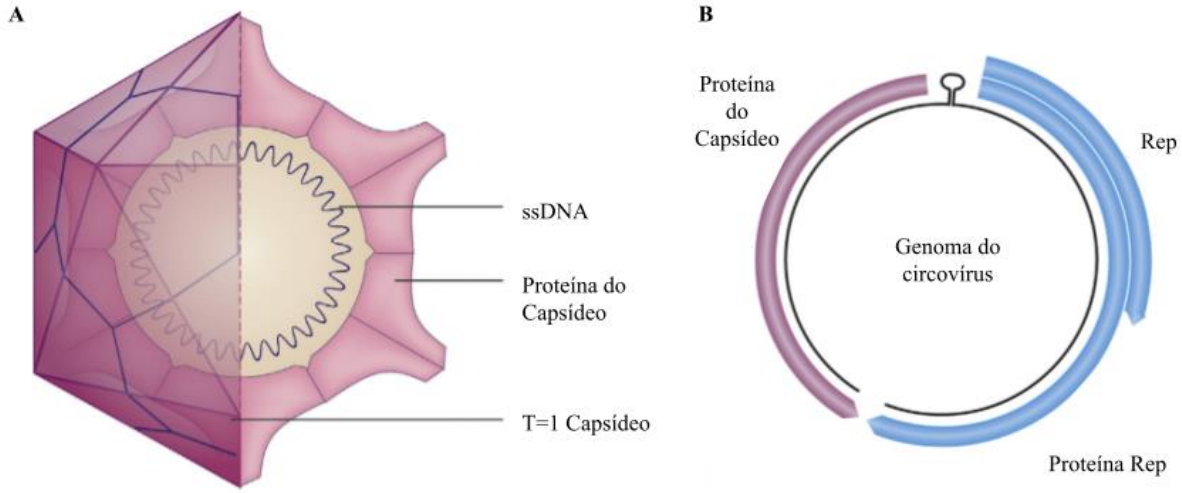
Em meados da década de 1970, a doença do vírus do bico e das penas (BFDV) que causava o crescimento anormal de penas de pássaros da ordem Psittacine no Pacífico Sul foi descrita (PASS; PERRY, 1984), sendo caracterizada pela distrofia e perda de penas simétricas, desenvolvendo deformidades que eventualmente levam a morte (RITCHIE et al., 1989). Em 1992, o circovírus de pombos (PiCV) é reportado, considerado estreitamente relacionado ao BFDV, sendo adicionado como uma tentativa de membro da família viral (SILVA et al., 2022; TODD, 2004; WOODS et al., 1994). No entanto o PiCV somente foi aceito como novo membro da família *Circoviridae* em 2005, de acordo com o relatório internacional do Comitê de Taxonomia de Virus (ICTV) (COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES, 2019).

1.3.1 Etiologia

Os CV, pertencentes a família *Circoviridae*, são pequenos vírus não envelopados, icosaédricos (T=1) com genoma de DNA fita simples circular (ssDNA) (RITCHIE et al., 1989). A família *Circoviridae* é uma das seis famílias que codificam uma proteína homóloga, a Rep, também relacionada a proteína Rep dos vírus CRESS bacterianos e arquenos (OPRIESSNIG et al., 2020). Estas seis famílias de vírus CRESS DNA são evolutivamente relacionadas por um *gene rep ancestral comum*, além de codificarem na fita complementar a proteína do Capsídeo (Cap) (ZHAO et al., 2019).

Os vírions são compostos por 60 subunidades da proteína Cap, aos quais empacotam o genoma viral (MACLACHLAN et al., 2016). Assim que essas estão maduras ocorrem como partículas livres dentro de células infectadas ou em um padrão linear de "colar de pérolas" em amostras livre de células (N. JAMES MACLACHLANEDWARD J. DUBOVI, 2017). Os genomas virais são covalentemente fechados e circulares (ssDNA), de 1700-1800 nt, contendo dois quadros de leitura abertos ambisense (ORFs), uma que codifica a proteína Rep, e outra, proteína imunogênica do Cap (MACLACHLAN JAMES MACLACHLAN N.; DUBOVI, 2017; PAYNE, 2017).

Figure 4. *Circovírus*. A. Estrutura do vírion. B. Organização do genoma.



Fonte: PAYNE et al. (2017) adaptado

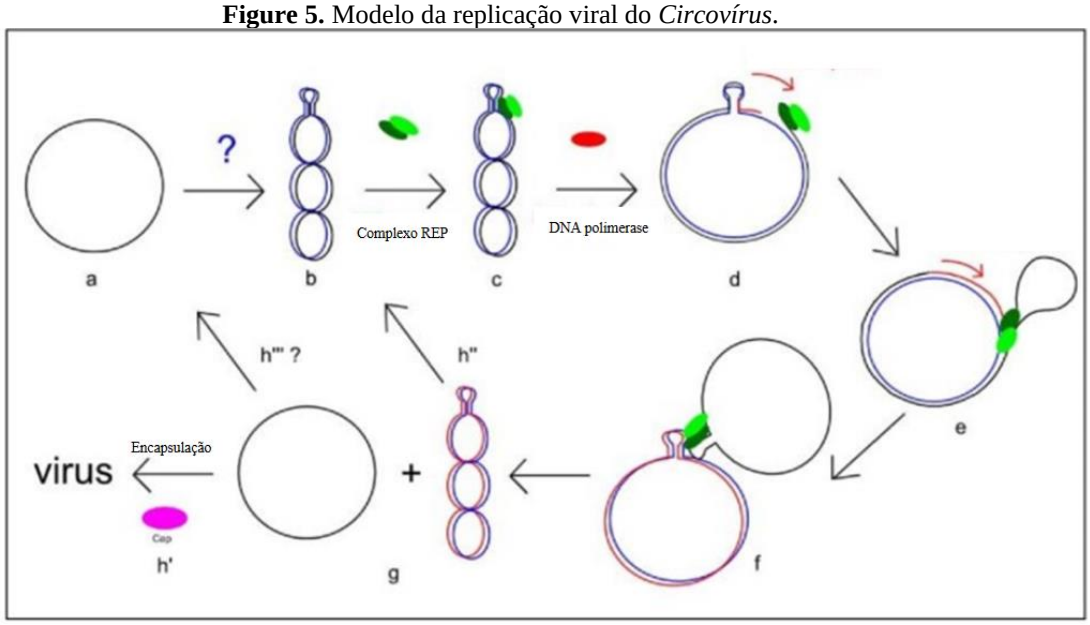
Os CV dependem da maquinária de replicação da célula hospedeira para replicação do genoma viral, com o ciclo de replicação completo tendo duração de 24 a 36 horas (MEERTS et al., 2005). Embora a Rep inicie a replicação viral, o processo continua apenas com enzimas celulares expressas durante o crescimento da fase S, começando somente depois da célula

hospedeira passar pela etapa de mitose (TISCHER et al., 1987). Além disso, a síntese do DNA ocorre no núcleo, então o DNA viral precisa passar a membrana plasmática e o envelope nuclear para que estabeleça uma infecção produtiva (HEATH; WILLIAMSON; RYBICKI, 2006).

A importação nuclear de macromoléculas é facilitada por complexos de poros nucleares, que são canais aquosos revestidos de proteínas (CORBETT; SILVER, 1997; HEATH; WILLIAMSON; RYBICKI, 2006). Mas, a mediação por sinal é necessária para o transporte pelos complexos de poros, geralmente envolvendo proteínas cariofílicas (HEATH; WILLIAMSON; RYBICKI, 2006; HISCOX, 2014). O Cap é direcionado ao núcleo se ligando ao DNA de fita simples e dupla de forma cooperativa (HEATH; WILLIAMSON; RYBICKI, 2006).

O ciclo de replicação da família *Circoviridae* é baseado na do PCV (Figura. 5), existe pouco conhecimento sobre o ciclo de outros CV. A ligação viral é mediada pela interação do capsídeo com glicosaminoglicanos ricos em sulfato, o processo de internalização segue diferentes caminhos, seja mediado por clatrina ou independente de dinamina e colesterol, mas dependente de actina e GTPase (FRANZO; SEGALÉS, 2021). A entrada do vírus no meio intracelular ocorre por endocitose, podendo ser armazenado sem se replicar por muito tempo (FRANZO; SEGALÉS, 2020)

Figure 5. Modelo da replicação viral do *Circovírus*.



Fonte: FAUREZ et al. (2009) Adaptado.

Após a infecção, a fita complementar é sintetizada com a DNA polimerase da célula hospedeira, produzindo uma replicação do genoma de fita dupla superenrolada (CHEUNG,

2003; FRANZO; SEGALÉS, 2021). Posteriormente o complexo de proteína iniciadora composto por Rep e Rep' (REP) liga-se a estrutura em alça-haste (*stem-loop*) (CHEUNG, 2003). Em seguida, a proteína iniciadora da RCR (Replicação Circulo Rolante) cliva o *loop* gerando uma extremidade 3'OH livre e uma ligação covalente entre o complexo e a extremidade 5' do genoma viral (FAUREZ et al., 2009).

A DNA polimerase inicia a replicação a partir da extremidade 3'OH livre (FAUREZ et al., 2009). Ao final, o complexo REP fecha o *loop* covalentemente, liberando uma molécula de ssDNA parental circular positiva e uma dsDNA parental circular negativa (FAUREZ et al., 2009).

3 REFERÊNCIAS

ABDELWHAB, Elsayed M.; METTENLEITER, Thomas C. Zoonotic Animal Influenza Virus and Potential Mixing Vessel Hosts. **Viruses**, v. 15, n. 4, p. 980, 16 abr. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3390/v15040980. Acesso em: 17 out. 2024.

ALLAN, Brian F. *et al.* Ecological correlates of risk and incidence of West Nile virus in the United States. **Oecologia**, v. 158, n. 4, p. 699-708, 22 out. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00442-008-1169-9. Acesso em: 9 out. 2024.

AMBROSIS, Nicolás *et al.* Active Surveillance of Asymptomatic, Presymptomatic, and Oligosymptomatic SARS-CoV-2-Infected Individuals in Communities Inhabiting Closed or Semi-closed Institutions. **Frontiers in Medicine**, v. 8, 4 fev. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3389/fmed.2021.640688. Acesso em: 7 out. 2024.

CHAROSTAD, Javad *et al.* A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: An imminent threat at doorstep. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 55, p. 102638, set. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2023.102638. Acesso em: 24 nov. 2024.

CHEUNG, Andrew K. The essential and nonessential transcription units for viral protein synthesis and DNA replication of porcine circovirus type 2. **Virology**, v. 313, n. 2, p. 452-459, set. 2003. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0042-6822(03)00373-8. Acesso em: 24 nov. 2025.

COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. **EC 51, Berlin, Germany, July 2019**. Alemanha: [s.n.].

CORBETT, A. H.; SILVER, P. A. Nucleocytoplasmic transport of macromolecules. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 61, n. 2, p. 193-211, jun. 1997. Disponível em: https://doi.org/10.1128/mmbr.61.2.193-211.1997. Acesso em: 30 nov. 2024.

CARDOSO DA SILVA, José Maria; CARDOSO DE SOUSA, Marcelo; CASTELLETTI, Carlos H. M. Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic forest, South America. **Global Ecology and Biogeography**, v. 13, n. 1, p. 85-92, jan. 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1466-882x.2004.00077.x. Acesso em: 10 dez. 2024.

SILVA, Maria Karolaynne da *et al.* A newly discovered circovirus and its potential impact on human health and Disease-editorial. **International Journal of Surgery**, 16 fev. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1097/js9.0000000000001198. Acesso em: 10 dez. 2024.

DE JONG, Maarten *et al.* Use of passive samplers as sewage surveillance tool to monitor a hepatitis A outbreak at a school in Amsterdam, the Netherlands, Oct 2022 – March 2023. **BMC Infectious Diseases**, v. 24, n. 1, 27 set. 2024. Disponível em: https://doi.org/10.1186/s12879-024-09938-1. Acesso em: 7 out. 2024.

DEVELEY, Pedro Ferreira. Bird Conservation in Brazil: Challenges and practical solutions for a key megadiverse country. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v. 19, n. 2, p. 171-178, abr. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.pecon.2021.02.005. Acesso em: 24 out. 2024.

DUAN, L. *et al.* Characterization of Low-Pathogenic H5 Subtype Influenza Viruses from Eurasia: Implications for the Origin of Highly Pathogenic H5N1 Viruses. **Journal of Virology**, v. 81, n. 14, p. 7529-7539, 16 maio 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1128/jvi.00327-07. Acesso em: 3 out. 2024.

DUNNING, Jake; THWAITES, Ryan S.; OPENSHAW, Peter J. M. Seasonal and pandemic influenza: 100 years of progress, still much to learn. **Mucosal Immunology**, v. 13, n. 4, p. 566-573, 21 abr. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41385-020-0287-5. Acesso em: 8 nov. 2024.

EZENWA, Vanessa O. *et al.* Avian diversity and West Nile virus: testing associations between biodiversity and infectious disease risk. **Proceedings of the Royal Society B**: Biological Sciences, v. 273, n. 1582, p. 109-117, 12 out. 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1098/rspb.2005.3284. Acesso em: 8 out. 2024.

FAUREZ, Florence *et al.* Replication of porcine circoviruses. **Virology Journal**, v. 6, n. 1, p. 60, 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1186/1743-422x-6-60. Acesso em: 4 out. 2024.

FRANZO, Giovanni; SEGALÉS, Joaquim. Family Circoviridae. *In*: FRANZO, Giovanni; SEGALÉS, Joaquim. **Reference Module in Life Sciences**. [*S. l.*]: Elsevier, 2020. ISBN 9780128096338. Disponível em: https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814515-9.00041-2. Acesso em: 10 out. 2024.

FRYMUS, Tadeusz *et al.* Influenza Virus Infections in Cats. **Viruses**, v. 13, n. 8, p. 1435, 23 jul. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3390/v13081435. Acesso em: 10 out. 2024.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **Global Avian Influenza Viruses with Zoonotic Potential situation update.** 22 feb. 2024. Disponível em: https://www.fao.org/animal-health/situation-updates/global-aiv-with-zoonotic-potential/en. Acesso em: 26 feb. 2024

GIBB, Rory *et al.* Ecosystem perspectives are needed to manage zoonotic risks in a changing climate. **BMJ**, p. m3389, 13 nov. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1136/bmj.m3389. Acesso em: 9 out. 2024.

GUAN, Y. *et al.* H5N1 Influenza Viruses Isolated from Geese in Southeastern China: Evidence for Genetic Reassortment and Interspecies Transmission to Ducks. **Virology**, v. 292, n. 1, p. 16-23, jan. 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1006/viro.2001.1207. Acesso em: 10 nov. 2024

HEATH, Livio; WILLIAMSON, Anna-Lise; RYBICKI, Edward P. The Capsid Protein of Beak and Feather Disease Virus Binds to the Viral DNA and Is Responsible for Transporting the Replication-Associated Protein into the Nucleus. **Journal of Virology**, v. 80, n. 14, p. 7219-7225, 15 jul. 2006. Disponível em: https://doi.org/10.1128/jvi.02559-05. Acesso em: 7 dez. 2024

HISCOX, J. A. The nucleolus – a gateway to viral infection? **Archives of Virology**, v. 147, n. 6, p. 1077-1089, jun. 2002. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00705-001-0792-0. Acesso em: 10 out. 2024

JAX, Elinor *et al.* Health monitoring in birds using bio-loggers and whole blood transcriptomics. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, 24 maio 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41598-021-90212-8. Acesso em: 4 nov. 2024

TAUBENBERGER, Jeffery K.; MORENS, David M. 1918 Influenza: the Mother of All Pandemics. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 15-22, jan. 2006. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid1209.05-0979. Acesso em: 9 nov. 2024.

KARESH, William B. *et al.* Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. **The Lancet**, v. 380, n. 9857, p. 1936-1945, dez. 2012. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61678-x. Acesso em: 4 nov. 2024

KEESING, Felicia *et al.* Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. **Nature**, v. 468, n. 7324, p. 647-652, dez. 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nature09575. Acesso em: 14 nov. 2024

KILBOURNE, Edwin D. Influenza Pandemics of the 20th Century. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 1, p. 9-14, jan. 2006. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid1201.051254. Acesso em: 14 nov. 2024

KRAMMER, Florian *et al.* Influenza. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, 28 jun. 2018. Disponível em: https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y. Acesso em: 30 out. 2024

LYCETT, Samantha J.; DUCHATEL, Florian; DIGARD, Paul. A brief history of bird flu. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**: Biological Sciences, v. 374, n. 1775, p. 20180257, 6 maio 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0257. Acesso em: 30 out. 2024

CIRCOVIRIDAE and Anelloviridae. *In*: FENNER'S Veterinary Virology. [*S. l.*]: Elsevier, 2017. p. 259-268. ISBN 9780128009468. Disponível em: https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800946-8.00013-1. Acesso em: 8 out. 2024

MALIK, Gaurav; ZHOU, Yan. Innate Immune Sensing of Influenza A Virus. **Viruses**, v. 12, n. 7, p. 755, 14 jul. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/v12070755. Acesso em: 11 nov. 2024

MANDL, Judith N. *et al.* Reservoir Host Immune Responses to Emerging Zoonotic Viruses. **Cell**, v. 160, n. 1-2, p. 20-35, jan. 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.12.003. Acesso em: 11 nov. 2024

MEDINA, Rafael A.; GARCÍA-SASTRE, Adolfo. Influenza A viruses: new research developments. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, n. 8, p. 590-603, 11 jul. 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nrmicro2613. Acesso em: 8 out. 2024

MEERTS, P. *et al.* Replication kinetics of different porcine circovirus 2 strains in PK-15 cells, fetal cardiomyocytes and macrophages. **Archives of Virology**, v. 150, n. 3, p. 427-441, 3 dez. 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s00705-004-0444-2. Acesso em: 8 out. 2024

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA**. Investigações de Síndrome Respiratória e Nervosa das Aves realizadas pelo Serviço Veterinário Oficial**. 28 fev. 2024a. Disponível em: https://mapaindicadores.agricultura.gov.br/publico/extensions/SRN/SRN.html. Acesso em: 28 fev. 2024.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Brasil registra primeiros casos de Influenza Aviária de Alta Patogenicidade em aves silvestres, Mapa alerta para cuidados.** 16 maio 2023b. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-registra-caso-de-gripe-aviaria-em-avessilvestresmapa-alerta-para-cuidados. Acesso em: 26 out. 2023

MOLINARI, Noelle-Angelique M. *et al.* The annual impact of seasonal influenza in the US: Measuring disease burden and costs. **Vaccine**, v. 25, n. 27, p. 5086-5096, jun. 2007. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2007.03.046. Acesso em: 2 out. 2024

MYERS, Norman *et al.* Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, fev. 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1038/35002501. Acesso em: 9 out. 2024.

NAYAK, Debi P. *et al.* Influenza virus morphogenesis and budding. **Virus Research**, v. 143, n. 2, p. 147-161, ago. 2009. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.virusres.2009.05.010. Acesso em: 20 out. 2024.

OPRIESSNIG, Tanja *et al.* Porcine circoviruses: current status, knowledge gaps and challenges. **Virus Research**, v. 286, p. 198044, set. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.virusres.2020.198044. Acesso em: 9 out. 2024.

PACHECO, José Fernando *et al.* Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee—second edition. **Ornithology Research**, v. 29, n. 2, p. 94-105, jun. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.1007/s43388-021-00058-x. Acesso em: 10 out. 2024.

PARRY, Rhys *et al.* Divergent Influenza-Like Viruses of Amphibians and Fish Support an Ancient Evolutionary Association. **Viruses**, v. 12, n. 9, p. 1042, 18 set. 2020. Disponível em: https://doi.org/10.3390/v12091042. Acesso em: 10 out. 2024.

PASS, D. A.; PERRY, R. A. The pathology of psittacine beak and feather disease. **Australian Veterinary Journal**, v. 61, n. 3, p. 69-74, mar. 1984. Disponível em: https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1984.tb15520.x. Acesso em: 10 out. 2024.

PAULES, Catharine; SUBBARAO, Kanta. Influenza. **The Lancet**, v. 390, n. 10095, p. 697-708, ago. 2017. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)30129-0. Acesso em: 19 out. 2024.

PAYNE, Susan. Other Small DNA Viruses. *In*: PAYNE, Susan. **Viruses**. [*S. l.*]: Elsevier, 2017. p. 243-246. ISBN 9780128031094. Disponível em: https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803109-4.00030-1. Acesso em: 8 nov. 2024.

PÉROT, Philippe *et al.* Circovirus Hepatitis Infection in Heart-Lung Transplant Patient, France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 2, fev. 2023. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid2902.221468. Acesso em: 23 out. 2024.

PINTO, Lawrence H.; LAMB, Robert A. The M2 Proton Channels of Influenza A and B Viruses. **Journal of Biological Chemistry**, v. 281, n. 14, p. 8997-9000, 30 dez. 2005. Disponível em: https://doi.org/10.1074/jbc.r500020200. Acesso em: 9 out. 2024.

POTTER, C. W. A history of influenza. **Journal of Applied Microbiology**, v. 91, n. 4, p. 572-579, out. 2001. Disponível em: https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01492.x. Acesso em: 7 nov. 2024.

RITCHIE, Branson W. *et al.* Characterization of a new virus from cockatoos with psittacine beak and feather disease. **Virology**, v. 171, n. 1, p. 83-88, jul. 1989. Disponível em: https://doi.org/10.1016/0042-6822(89)90513-8. Acesso em: 8 dez. 2024.

RUST, Michael J. *et al.* Assembly of endocytic machinery around individual influenza viruses during viral entry. **Nature Structural & Molecular Biology**, v. 11, n. 6, p. 567-573, 2 maio 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1038/nsmb769. Acesso em: 9 dez. 2024.

SAMJI, T. Influenza A: Understanding the Viral Life Cycle. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 82, n. 4, p. 153, dez. 2009.

DE VRIES, Erik *et al.* Dissection of the Influenza A Virus Endocytic Routes Reveals Macropinocytosis as an Alternative Entry Pathway. **PLoS Pathogens**, v. 7, n. 3, p. e1001329, 31 mar. 2011. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001329. Acesso em: 10 out. 2024.

SENNE, Dennis A. Avian Influenza in North and South America, the Caribbean, and Australia, 2006–2008. **Avian Diseases**, v. 54, s1, p. 179-186, mar. 2010. Disponível em: https://doi.org/10.1637/8921-050809-review.1. Acesso em: 9 dez. 2024.

SILVA, Benji Brayan Ilagan *et al.* Pigeon Circovirus over Three Decades of Research: Bibliometrics, Scoping Review, and Perspectives. **Viruses**, v. 14, n. 7, p. 1498, 8 jul. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.3390/v14071498. Acesso em: 15 out. 2024

SKEHEL, John J.; WILEY, Don C. Receptor Binding and Membrane Fusion in Virus Entry: The Influenza Hemagglutinin. **Annual Review of Biochemistry**, v. 69, n. 1, p. 531-569, jun. 2000. Disponível em: https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.531. Acesso em: 9 out. 2024.

SOBOLEV, Ivan *et al.* Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N8) Virus Clade 2.3.4.4b, Western Siberia, Russia, 2020. **Emerging Infectious Diseases**, v. 27, n. 8, p. 2224-2227, ago. 2021. Disponível em: https://doi.org/10.3201/eid2708.204969. Acesso em: 18 out. 2024.

STURROCK, Hugh J. W. *et al.* Targeting Asymptomatic Malaria Infections: Active Surveillance in Control and Elimination. **PLoS Medicine**, v. 10, n. 6, p. e1001467, 18 jun. 2013. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001467. Acesso em: 19 out. 2024.

SWADDLE, John P.; CALOS, Stavros E. Increased Avian Diversity Is Associated with Lower Incidence of Human West Nile Infection: Observation of the Dilution Effect. **PLoS ONE**, v. 3, n. 6, p. e2488, 25 jun. 2008. Disponível em: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002488. Acesso em: 17 out. 2024.

TISCHER, Ilse *et al.* Replication of porcine circovirus: induction by glucosamine and cell cycle dependence. **Archives of Virology**, v. 96, n. 1-2, p. 39-57, mar. 1987. Disponível em: https://doi.org/10.1007/bf01310989. Acesso em: 17 out. 2024.

TISCHER, I. *et al.* A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. **Nature**, v. 295, n. 5844, p. 64-66, jan. 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1038/295064a0. Acesso em: 18 nov. 2024.

TODD, D. *et al.* Animal circoviruses. *In*: TODD, D. *et al.* **Advances in Virus Research**. [*S. l.*]: Elsevier, 2001. p. 1-70. ISBN 9780120398577. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0065-3527(01)57000-1. Acesso em: 28 out. 2024.

TODD, D. Avian circovirus diseases: lessons for the study of PMWS. **Veterinary Microbiology**, v. 98, n. 2, p. 169-174, 4 fev. 2004. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.10.010. Acesso em: 28 out. 2024.

UYEKI, Timothy M. *et al.* Influenza. **The Lancet**, v. 400, n. 10353, p. 693-706, ago. 2022. Disponível em: https://doi.org/10.1016/s0140-6736(22)00982-5. Acesso em: 23 out. 2024.

VAN DOORN, H. Rogier. Emerging infectious diseases. **Medicine**, v. 42, n. 1, p. 60-63, jan. 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2013.10.014. Acesso em: 13 out. 2024.

WEBSTER, Robert G.; GOVORKOVA, Elena A. Continuing challenges in influenza. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1323, n. 1, p. 115-139, 30 maio 2014. Disponível em: https://doi.org/10.1111/nyas.12462. Acesso em: 13 out. 2024.

WHITE, Judy; HELENIUS, Ari; GETHING, Mary-Jane. Haemagglutinin of influenza virus expressed from a cloned gene promotes membrane fusion. **Nature**, v. 300, n. 5893, p. 658-659, dez. 1982. Disponível em: https://doi.org/10.1038/300658a0. Acesso em: 20 out. 2024.

WILLE, Michelle; HOLMES, Edward C. The Ecology and Evolution of Influenza Viruses. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 10, n. 7, p. a038489, 23 dez. 2019. Disponível em: https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038489. Acesso em: 23 out. 2024.

WOODS, Leslie W. *et al.* A Retrospective Study of Circovirus Infection in Pigeons: Nine Cases (1986–1993). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 2, p. 156-164, abr. 1994. Disponível em: https://doi.org/10.1177/104063879400600205. Acesso em: 19 out. 2024.

WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (WOAH). **Statement on avian influenza and mammals**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <https://www.woah.org/en/statement-on-avian-influenza-and-mammals/>. Acesso em: 16 set. 2023.

ZHAO, Lele *et al.* Eukaryotic Circular Rep-Encoding Single-Stranded DNA (CRESS DNA) Viruses: Ubiquitous Viruses With Small Genomes and a Diverse Host Range. *In*: ZHAO, Lele *et al.* **Advances in Virus Research**. [*S. l.*]: Elsevier, 2019. p. 71-133. ISBN 9780128177228. Disponível em: https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.10.001. Acesso em: 9 out. 2024.

ZUSAK, Markus. **A Menina Que Roubava Livros**. [*S. l.*]: Intrinseca, 2014. ISBN 9788580574517.

6. CONCLUSÃO

No presente estudo, foram analisadas amostras de espécies aviárias e mamíferos provenientes das regiões noroeste paulista e litoral do Paraná, visando à detecção de AIV e CV em swabs. As análises laboratoriais confirmaram a presença de AIV por meio de RT-qPCR em amostras de três animais do litoral paranaense, sendo duas aves positivas, a *Sula leucogaster* e o *Thalasseus acuflavidus*, e um mamífero, a *Otaria flavescens*. As amostras da *Sula leucogaster* foram subsequentemente analisadas por NGS, o que confirmou a presença do subtipo HPAIV H5N1 2.3.4.4b. Estes resultados corroboram a hipótese de que a Rota Migratória do Pacífico desempenha um papel significativo na dispersão viral de HPAIV.

Além disso, observou-se uma alta prevalência de subtipos de CV em amostras de espécies aviárias da região noroeste paulista (22/601, 3,6%) e uma prevalência inferior no litoral do Paraná (2/601, 0,33%). Dentre as amostras positivas, a maioria correspondeu a indivíduos em estágio de desenvolvimento adulto (15/24, 62%), sendo as amostras cloacais as mais frequentemente positivas (11/24, 45%). A detecção desses subtipos de CV em famílias aviárias distintas das comumente descritas na literatura pode sugerir novas vias de transmissão e hospedeiros ainda não plenamente identificados. Assim como no caso da identificação do Urutau (*Nyctibius griseus)* como novo hospedeiro de RaCV.

Por fim, os animais investigados para a presença de AIV e CV não apresentaram sinais compatíveis com infecção por esses vírus. Nesse contexto, o estudo reafirma a importância da caracterização molecular como ferramenta essencial para o diagnóstico preciso, contribuindo para a mitigação dos impactos negativos na saúde dos animais.