

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - Campus de São José do Rio Preto

GLEYCE KELLY TEIXEIRA DOS SANTOS

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GÊNEROS DE CORONAVIRUS (DELTA
E GAMMACORONAVIRUS) EM AVES SELVAGENS NO LITORAL PARANAENSE**

São José do Rio Preto

2025



GLEYCE KELLY TEIXEIRA DOS SANTOS

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GÊNEROS DE CORONAVIRUS (DELTA E GAMMACORONAVIRUS) EM AVES SELVAGENS NO LITORAL PARANAENSE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Bacharel(a) em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Paula Rahal

Coorientador(a): Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa

São José do Rio Preto

2025

S237d

Santos, Gleyce Kelly Teixeira dos

Detecção e caracterização dos gêneros de coronavírus (delta e gammacoronavírus) em aves selvagens no litoral paranaense / Gleyce Kelly Teixeira dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2025

36 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Paula Rahal

Coorientador: Vivaldo Gomes da Costa

1. CoV. 2. Aves. 3. Gamma. 4. Delta. I. Título.

GLEYCE KELLY TEIXEIRA DOS SANTOS

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GÊNEROS DE CORONAVIRUS (DELTA E GAMMACORONAVIRUS) EM AVES SELVAGENS NO LITORAL PARANAENSE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, para obtenção do título de Bacharel(a) em Ciências Biológicas.

Data da defesa: 05 / 12 / 2025

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Paula Rahal

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

Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa

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

Dra. Jéssica Maróstica de Sá

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

Dra. Pâmela Jójce Previdelli da Conceição

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

MSc. Dayla Bott Geraldini

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

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Prof^a. Dr^a. Paula Rahal pela oportunidade de fazer parte do laboratório.

Ao Prof. Dr. Vivaldo Gomes da Costa por ter me coorientado e me auxiliado durante todo o processo.

Aos meus amigos que passaram todos esses anos de graduação comigo.

E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de pesquisa.

Agradeço a todos!

“Em algum lugar, alguma coisa incrível está esperando para ser descoberta.”

- Carl Sagan.

RESUMO

O grupo dos coronavírus (CoV) está associado a importantes doenças aviárias. As aves silvestres são hospedeiras potenciais e amplamente distribuídas desses vírus. Entre os animais que habitam ambientes aquáticos, as aves representam o grupo com a maior diversidade de CoVs, com múltiplas variedades já identificadas geneticamente. Embora o Brasil concentre cerca de 18% da diversidade global de espécies aviárias, os estudos sobre os tipos de CoV em aves silvestres na América do Sul continuam escassos. Diante disso, o objetivo geral deste projeto é detectar e caracterizar molecularmente os gêneros de CoV - Gamma e/ou Delta - em aves silvestres provenientes do litoral paranaense. Nesse contexto, amostras de swabs, constituídas principalmente por material proveniente da coana e da cloaca, foram coletadas, e o RNA total foi extraído pelo método Trizol. Posteriormente, o RNA foi utilizado como molde na reação de transcrição reversa, empregando o kit High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit. O material obtido foi submetido à técnica de Nested-PCR, realizada no equipamento Veriti Thermal Cycler. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose a 1,4%. O sequenciamento foi conduzido pela técnica de Sanger, na qual os amplicons positivos foram preparados utilizando o BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit e os primers da nPCR (N2-F e N2-R), sendo posteriormente lidos no sequenciador capilar Spectrum Compact CE System. Foram analisadas 626 amostras, das quais as coletas e testagens foram realizadas em 2024 e incluíram predominantemente indivíduos juvenis, além de alguns adultos, filhotes e indivíduos de idade indeterminada. A maioria dos indivíduos (n = 301) contribuiu com mais de uma amostra, enquanto 24 indivíduos forneceram apenas uma amostra, totalizando 325 indivíduos incluídos no estudo. As amostras foram compostas por 313 swabs orais (50,0%), 292 swabs cloacais (46,6%), 19 swabs anais (3,0%), um swab retal (0,1%) e um swab intestinal (0,1%). As ordens de aves amostradas foram: *Procellariiformes* (52; 16,0%), *Charadriiformes* (73; 22,4%), *Suliformes* (89; 27,3%), *Pelecaniformes* (5; 1,5%) e *Sphenisciformes* (106; 32,6%). Interessantemente, no total nove amostras foram positivas para CoV, sendo cinco (55,6%) provenientes de *Charadriiformes*, três (33,3%) de *Suliformes* e um (11,1%) de *Procellariiformes*. Entre as espécies positivas, destacam-se *Larus dominicanus* (*Charadriiformes* – gaivotão), *Sula leucogaster* (*Suliformes* – atobá-pardo) e *Thalassarche melanophris* (*Procellariiformes* – albatroz-de-sobrancelha). Das amostras positivas, oito (88,9%) foram obtidas da cloaca e apenas uma (11,1%) da cavidade oral. De nota, o sequenciamento revelou que quatro amostras apresentaram alta similaridade com deltaCoV previamente descritos na literatura. Considerando o hábito migratório das aves e o contato frequente que têm com outras espécies, se faz necessário ampliar estudos de monitoramento epidemiológico, sobretudo na América do Sul. Dessa forma, é possível elucidar aspectos da epidemiologia viral, compreender rotas migratórias e avaliar a proximidade das aves com áreas urbanas, pois podem apresentar potencial risco a saúde humana.

Palavras-chave: CoV; Aves; Gamma; Delta

ABSTRACT

The coronavirus (CoV) group is associated with important avian diseases. Wild birds are potential and widely distributed hosts of these viruses. Among animals that inhabit aquatic environments, birds represent the group with the greatest diversity of CoVs, with multiple genetically identified varieties. Although Brazil encompasses about 18% of the global diversity of bird species, studies on the types of CoV in wild birds in South America remain scarce. In light of this, the overall objective of this project is to detect and molecularly characterize the CoV genera—Gamma and/or Delta—in wild birds from the coast of Paraná. In this context, swab samples, consisting mainly of material from the choana and cloaca, were collected, and total RNA was extracted using the Trizol method. Subsequently, the RNA was used as a template in the reverse transcription reaction, employing the High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit. The resulting material was subjected to the Nested-PCR technique, performed in a Veriti Thermal Cycler. The amplified products were analyzed by electrophoresis on a 1.4% agarose gel. Sequencing was carried out using the Sanger technique, in which positive amplicons were prepared with the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit and the nPCR primers (N2-F and N2-R), and were subsequently read in the Spectrum Compact CE System capillary sequencer. A total of 626 samples were analyzed, collected and tested in 2024, predominantly from juvenile individuals, as well as some adults, chicks, and birds of undetermined age. Most individuals ($n = 301$) contributed more than one sample, whereas 24 individuals provided only a single sample, totaling 325 individuals included in the study. The samples consisted of 313 oral swabs (50.0%), 292 cloacal swabs (46.6%), 19 anal swabs (3.0%), one rectal swab (0.1%), and one intestinal swab (0.1%). The bird orders sampled were: Procellariiformes (52; 16.0%), Charadriiformes (73; 22.4%), Suliformes (89; 27.3%), Pelecaniformes (5; 1.5%), and Sphenisciformes (106; 32.6%). Interestingly, a total of nine samples tested positive for CoV, with five (55.6%) originating from Charadriiformes, three (33.3%) from Suliformes, and one (11.1%) from Procellariiformes. Among the positive species, noteworthy examples include *Larus dominicanus* (Charadriiformes – kelp gull), *Sula leucogaster* (Suliformes – brown booby), and *Thalassarche melanophris* (Procellariiformes – black-browed albatross). Of the positive samples, eight (88.9%) were obtained from the cloaca and only one (11.1%) from the oral cavity. Notably, sequencing revealed that four samples showed high similarity to deltaCoV previously described in the literature. Considering the migratory habits of birds and their frequent contact with other species, it is necessary to expand epidemiological monitoring studies, particularly in South America. This would make it possible to elucidate aspects of viral epidemiology, understand migratory routes, and assess the proximity of birds to urban areas, as they may pose a potential risk to human health.

Keywords: CoV; Birds; Gamma; Delta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Coronavírus visto ao microscópio eletrônico.	5
Figura 2 – Representação de regiões conservadas e não traduzidas (UTRs) de um CoV aviário.	6
Figura 3 - Desenho esquemático do genoma dos coronavírus e transcrição dos RNAs subgenômicos.	7
Figura 4 - Representação esquemática da partícula de CoV.....	8
Figura 5 - Esquema da replicação viral do IBV na célula do hospedeiro.	12
Figura 6 - Gel de agarose de amostras positivas pelo teste nested-PCR para detecção de CoV aviário.	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Desenho de primers para detecção molecular de Pan-CoV.....	16
Tabela 2 - Amostras positivas no PCR para CoV aviário separadas por ordem animal.....	18

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AlphaCoV	Alfacoronavírus
BetaCoV	Betacoronavírus
CoV	Coronavírus
cDNA	DNA complementar
DeltaCoV	DeltaCoV
DNA	Ácido desoxirribonucleico
<i>E. coli</i>	Escherichia coli
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
GamaCoV	Gamacoronavírus
H2O DEPC	Água ultrapura tratada com Dietil Pirocarbonato
H2O Milli Q	Água ultrapura
IBV	Vírus da bronquite infecciosa
Kb	Quilobase
kDa	Quilodalton
Km	Quilometro
mM	Milimolar
nm	Nanometro
Pan-CoV	Protocolo para detecção de uma ampla gama de coronavírus
PCR	Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	Ácido ribonucleico
RNA _m	RNA mensageiro
rpm	Rotações por minuto
μL	Microlitros
UV	Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

$\wedge$	Elevado
$\%$	Porcentagem
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 ASPECTOS GERAIS DOS COV	5
2.2 EPIDEMIOLOGIA	10
2.2.1 O IBV – Vírus da Bronquite Infecciosa	10
2.2.2 Distribuição do CoV	13
3 OBJETIVOS	15
3.1 OBJETIVO GERAL	15
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
4 METODOLOGIA.....	15
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	15
4.2 DETECÇÃO VIRAL DE PAN-COV	16
4.3PURIFICAÇÃO DE DNA DO AMPLICON.....	17
4.4 BIG DYE E SEQUENCIAMENTO DE SANGER.....	17
5 RESULTADOS.....	18
5.1 DETECÇÃO DAS AMOSTRAS DE SÍTIOS DE COANA E CLOACA DE AVES PARA PAN-COV	18
5.2 SEQUENCIAMENTO DE DNA	20
5.3 ANÁLISE DE SEQUENCIAMENTO PAN-COV NO BANCO DE DADOS GENBANK.....	20
6. DISCUSSÃO	21
CONCLUSÃO.....	22
REFERÊNCIAS.....	23

1.INTRODUÇÃO

Os coronavírus (CoV) são vírus envelopados pertencentes à família *Coronaviridae* e à subfamília *Coronavirinae*, da ordem *Nidovirales*; classificados em quatro gêneros: *Alphacoronavirus* (AlphaCoV), *Betacoronavirus* (BetaCoV), *Gammacoronavirus* (GammaCoV) e *Deltacoronavirus* (DeltaCoV) (Durães-Carvalho et al., 2015; Lima et al., 2015). Os gêneros AlphaCoV e BetaCoV são conhecidos por infectar e causar doenças em mamíferos, enquanto os GammaCoV ocorrem predominantemente em aves. O DeltaCoV, identificado mais recentemente, pode ser detectado tanto em aves quanto em mamíferos (Durães-Carvalho et al., 2015; Chu et al., 2011).

Os CoV são vírus de RNA de fita simples e polaridade positiva, reconhecidos como agentes causadores de doenças relevantes que impactam tanto a saúde humana quanto a animal (Barbosa et al., 2019; Chamings et al., 2018). Os CoVs possuem os maiores genomas entre os vírus de RNA, apresentam taxas elevadas de mutação e recombinação quando comparados a outros vírus de características semelhantes, o que lhes confere uma notável capacidade de adaptação a novos hospedeiros e nichos ecológicos (Barbosa et al., 2019).

As aves selvagens são os maiores reservatórios de CoV aviários, sendo hospedeiras potenciais e onipresentes do vírus (Chu *et al.*, 2011; Chamings *et al.*, 2018). A principal preocupação reside no fato das aves serem altamente móveis, o que pode favorecer o transporte e a disseminação do vírus entre aves a longas distâncias, em diferentes regiões geográficas e ao longo das rotas migratórias. Esse cenário sugere a ocorrência potencialmente frequente de transmissões intergênero e interespecíficas (Chu et al., 2011; Barbosa et al., 2019; Chamings et al., 2018). Há uma considerável diversidade de CoV circulando entre aves domésticas e silvestres, especialmente dos gêneros *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus*. Contudo, ainda se sabe pouco sobre a biologia dos coronavírus aviários (Chu et al., 2011; Barbosa et al., 2019).

Dessa forma, as aves migratórias desempenham um papel fundamental na manutenção e disseminação CoV na natureza. O contato próximo entre múltiplas espécies pode favorecer eventos de recombinação, aumentando o risco de troca de hospedeiros e,

consequentemente, o surgimento de novos vírus emergentes (Lima et al., 2015; Durães-Carvalho et al., 2015; Barbosa et al., 2019). Além disso, sabe-se que existe a circulação de CoVs em populações clinicamente saudáveis de diferentes espécies, mas que podem incubar e disseminar o vírus (Chu *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2015; Thomazelli *et al.*, 2012).

Estudos indicam que os CoVs são comuns entre aves associadas a ambientes aquáticos, e há evidências de que esse grupo representa o principal reservatório e disseminador do vírus entre populações saudáveis. Essa dinâmica favorece a manutenção e a ampliação da circulação viral, permitindo sua persistência tanto em ambientes terrestres quanto aquáticos (Lima et al., 2015; Nogueira, 2020). Portanto, há um interesse crescente em avaliar a presença de CoV em animais silvestres. Desde então, a fauna selvagem tem sido mantida sob vigilância epidemiológica devido à sua capacidade de atuar como reservatório de vírus emergentes, que podem representar riscos à humanidade e, ao mesmo tempo, ameaçar a própria vida silvestre (Chamings et al., 2018; Lima et al., 2015).

Na América do Sul, há escassez de informações sobre a ocorrência de coronavírus em aves silvestres. O Brasil, entretanto, ocupa uma posição de destaque mundial por abrigar uma das maiores biodiversidades de aves, incluindo espécies residentes e migratórias que podem atuar como reservatórios naturais (Barbosa, 2019; Thomazelli et al., 2012). A região Amazônica representa uma das principais portas de entrada das rotas migratórias de aves conhecidas, juntamente com o litoral nordestino, que abriga diversas áreas de invernada (Thomazelli et al., 2012). Ao longo desses trajetos, aves migratórias entram em contato com espécies residentes, possibilitando o transporte e a disseminação de patógenos. Consequentemente, as aves residentes podem atuar como amplificadoras, servindo como reservatórios em suas populações e transmitindo os agentes a outros hospedeiros (Barbosa, 2019).

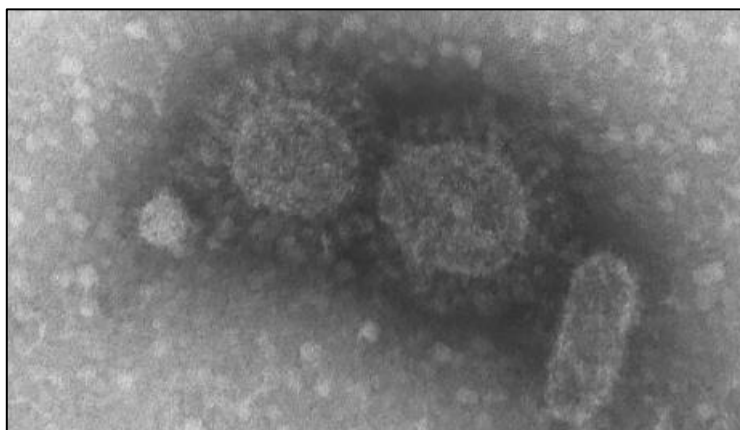
Devido à potencial diversidade de CoVs presentes na avifauna brasileira e à proximidade entre as rotas migratórias, aliada à escassez de estudos e informações na América do Sul, especialmente no Brasil, torna-se fundamental ampliar os dados de vigilância desses vírus em um número expressivo de indivíduos e espécies, bem como sua caracterização genômica. Adicionalmente, essas informações são essenciais para o monitoramento contínuo e para o delineamento de estudos ecológicos e de suas inter-relações, com o objetivo de investigar a associação entre a epidemiologia viral, as rotas de migração e a proximidade com áreas urbanas (Barbosa et al., 2019; Lima et al., 2015; Nogueira, 2020).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Aspectos Gerais dos CoV

O termo CoV foi proposto pela primeira vez em 1968, com base na morfologia viral observada ao microscópio eletrônico (Figura 1). A denominação deve-se à presença de espículas no envelope do vírus, que conferem uma aparência semelhante à de uma coroa solar (Simão, 2017; Felipe, 2011). A priori, a classificação dos gêneros de CoV foi estabelecida com base em análises filogenéticas, genotípicas e sorológicas. Assim, a família *Coronaviridae* foi inicialmente dividida em duas subfamílias, *Torovirinae* e *Coronavirinae*. A família *Coronavirinae* foi subdividida em gêneros que, à época, foram denominados grupos 1, 2 e 3, conforme o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV). Posteriormente, esses grupos foram renomeados para as designações atualmente reconhecidas, com a inclusão de um novo gênero proposto mais recentemente, o Deltacoronavirus (Barbosa, 2015; Nogueira, 2020; Simão, 2017).

Figura 1- Coronavírus visto ao microscópio eletrônico.



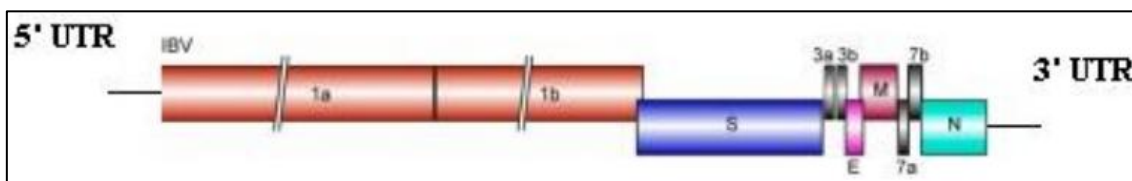
Fonte: Carlos Fioravanti, 2020.

Os CoVs apresentam uma simetria helicoidal, de forma esférica ou pleomórfica, com cerca de 100 a 150 nm de diâmetro e com 4 proteínas estruturais, além disso seu envelope é composto por projeções glicoproteicas, a Spike, em que sua conformação formam as espículas (Simão, 2017; Buitrago, 2006). Basicamente ele apresenta três estruturas em sua constituição: o RNA, o envelope viral e a membrana viral.

O RNA é a estrutura responsável pela replicação e reprodução do vírus dentro das células infectadas, que codifica três proteínas estruturais que são, a glicoproteína de superfície (S - espícula), proteína de membrana (M), nucleocapsídeo (N) e uma quarta estrutura denominada pequena proteína de membrana (E), associada ao envelope viral e essencial para a formação do vírion (Nogueira, 2020; Simão, 2017; Felipe, 2011).

Nas extremidades 5' e 3' do genoma se localizam duas regiões conservadas e não traduzidas (*Untranslated Region* - UTR) com cerca de 500 nucleotídeos cada uma, elas têm um papel fundamental em mediar as interações físicas entre outras UTRs, proteínas replicases e as proteínas celulares do hospedeiro (Carvalho, 2015) (Figura 2).

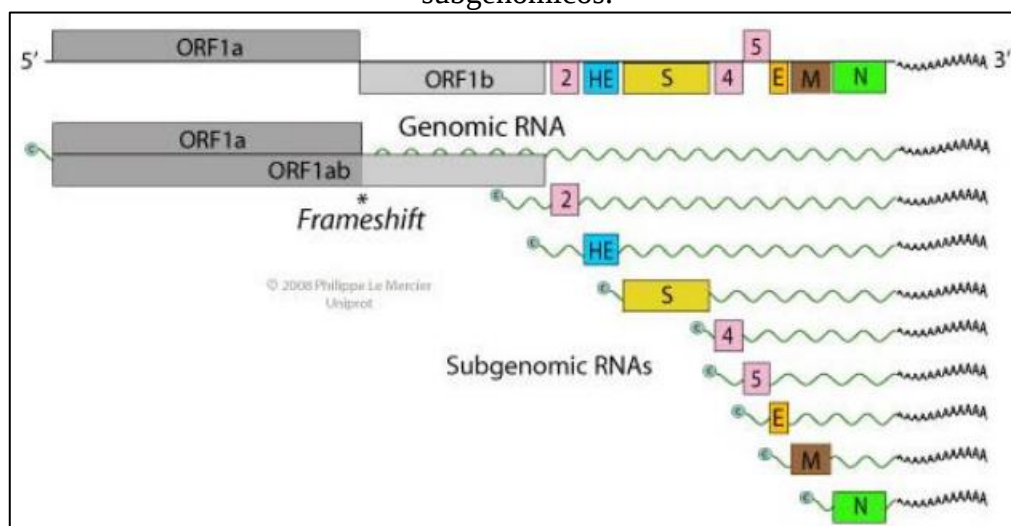
Figura 2 – Representação de regiões conservadas e não traduzidas (UTRs) de um CoV aviário.



Fonte: Carvalho, 2015.

O gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) é uma poliproteína que tem aproximadamente de 740 a 800 kDa, se localiza próximo a extremidade 5' do gene e ocupa aproximadamente dois terços do genoma do vírion, sendo responsável pela transcrição e pela replicação viral (Simão, 2017; Buitrago, 2006; Felipe, 2011). A RdRp é uma proteína altamente conservada dentro dos CoV (Buitrago, 2006). O gene é responsável pela codificação de duas poliproteínas, denominadas de pp1a e pp1ab, clivadas por proteinases virais resultando em 16 proteínas, as Nsp1 – Nsp16 (Simão, 2017) (Figura 3). Os CoVs apresentam uma grande variabilidade antigênica devido as altas taxas de recombinação, de aproximadamente 10^3 (Simão, 2017).

Figura 3 - Desenho esquemático do genoma dos coronavírus e transcrição dos RNAs subgenômicos.



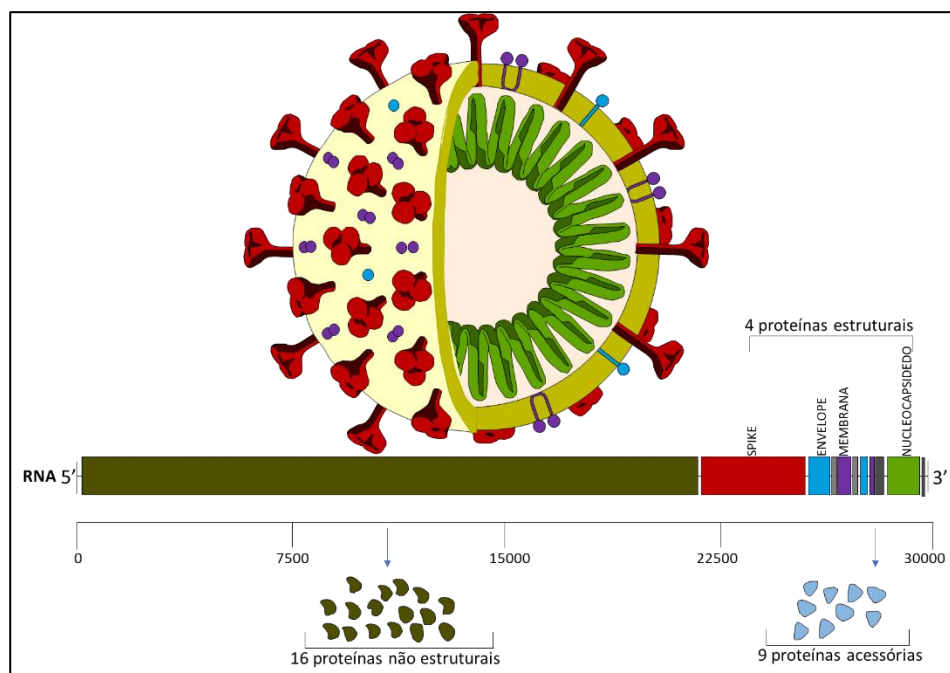
Fonte: Simão, 2017.

O envelope viral é formado por projeções glicoproteicas externas (espículas) de aproximadamente 20 nm fazendo parte de sua composição (Simão, 2017; Nogueira, 2020) (Figura 4). Dentro do envelope estão localizados o genoma de RNA e a proteína N (nucleocapsídeo), que é uma fosfoproteína de aproximadamente 50 a 60 kDa e rica em aminoácidos básicos, a proteína N é responsável por conferir ao RNA genômico proteção contra as ribonucleases e domínios de ligação ao RNA, para que dessa maneira, o RNA possa se ligar à membrana e a fosfolípidos que facilitam a replicação viral (Simão, 2017; Buitrago, 2006). A ligação da proteína N com terminações 5' e 3' do RNA viral demonstra sua participação na modulação do RNA pela sua capacidade de se ligar a membrana, e dessa forma, possibilita a formação de complexos de transcrição (Simão, 2017).

A proteína E é uma proteína integral dos CoV, e juntamente com a proteína M desempenha um papel importante na constituição viral, a membrana (Simão, 2017; Nogueira, 2020). Quando a proteína E é expressa sozinha, ou expressa em conjunto com a proteína M, forma partículas semelhantes às dos vírus, e segundo estudos é possível que ela desempenhe um papel importante na produção do vírus infeccioso, embora não seja essencial para tal (Simão, 2017). Já a proteína de matriz ou de membrana (M), varia entre 225 a 230 aminoácidos, e tem como função principal a montagem da partícula viral e formação da estrutura do envelope *core*, a proteína M apresenta baixa variabilidade entre coronavírus (Simão, 2017; Buitrago, 2006). Além disso, a proteína M interage com outras

proteínas de membrana no local de brotamento da nova partícula viral (Simão, 2017). A proteína M pode adotar duas conformações, alongada e compacta, geralmente associada as glicosilações da proteína; a alongada ligada a rigidez da membrana e com muitas espículas e a compacta associada a grande flexibilidade da membrana e baixa quantidade de espículas (a quantidade de espículas depende do processamento da proteína S e sua eficiência de dobramento) (Simão, 2017). Ou seja, a proteína M faz parte da estrutura que rodeia e envolve a cobertura proteica externa e que oferece sustentação as espículas, que são estruturas responsáveis por reconhecer e entrar em contato com a membrana da célula alvo, nomeada de Proteína S (spike) (Nogueira, 2020).

Figura 4 - Representação esquemática da partícula de CoV



Fonte: Alanagreh, 2020; Bortoletti, 2020

Ao contrário do que ocorre na proteína M, as mutações influenciam a proteína S, visto que ela é determinante para o tropismo celular da estirpe envolvida e consequente patogênese (Buitrago, 2006; Simão, 2017). A proteína S é composta por aproximadamente 3.400 nucleotídeos e é clivada em duas subunidades denominadas de S1 e S2 (Simão, 2017; Felipe, 2011). A subunidade S1 é responsável pela ligação ao receptor celular e a principal proteína responsável pela indução de resposta imune do hospedeiro; enquanto a S2 realiza a fusão na membrana celular do hospedeiro (Simão, 2017).

As doenças causadas por CoV foram descritas há mais de 70 anos, porém informações acerca da família do vírus permaneceu incompleta por muitas décadas (Torres, 2012). Hoje se sabe que são agentes patógenos reconhecidos por possuírem uma origem animal e serem comumente associados ao ambiente terrestre, sobretudo aos mamíferos e aves (Nogueira, 2020).

Informações mais consistentes sobre a família *Coronaviridae* passaram a ganhar destaque após a descoberta de um novo coronavírus humano em 2003, responsável pela Síndrome Respiratória Aguda Grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome* - SARS) (Torres, 2012). Estudos genéticos indicam que os coronavírus têm origem em morcegos e aves, sendo o agente causador da SARS uma das cepas mais patogênicas associadas a esses grupos de animais (Nogueira, 2020).

De maneira geral, os CoV estão associados a infecções em tecidos epiteliais, podendo afetar o trato respiratório em humanos e o trato digestivo em outros animais (Nogueira, 2020). Em humanos, geralmente estão relacionados a quadros de resfriado comum; já em animais, podem causar gastroenterites, além de manifestações respiratórias, hepáticas, renais e neurológicas (Lima et al., 2015; Nogueira, 2020). Sabe-se que as aves podem atuar como reservatórios de diversos vírus, incluindo o da gripe aviária e outros vírus entéricos como adenovírus, astrovírus, reovírus, entre outros (Buitrago, 2006). No entanto, o controle dessas doenças pode ser realizado por meio de vacinas e medidas de biossegurança, assim como, por exemplo, evitar o contato com aves silvestres (Lima et al., 2015). Todos os estudos até o presente momento demonstraram a presença de CoV em uma variedade de aves selvagens com uma ampla distribuição em todos os continentes, com exceção da Austrália e Antártida que não estão inseridas nas rotas de migração, mas é bastante provável que o vírus circule em todo o mundo (Chamings et al., 2018). Portanto, os dados obtidos corroboram para a hipótese de transbordamento interespecífico, denotando que a frequência em que esse fenômeno ocorre é advindo da origem a partir de um ancestral comum, ilustrando uma flexibilidade substancial do hospedeiro (Chamings et al., 2018).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

2.2.1 O IBV – Vírus da Bronquite Infecciosa

O vírus da bronquite infecciosa (IBV) é um dos maiores exemplos de CoV que causam doenças em seus hospedeiros, sendo potencialmente encontrado em aves selvagens de diferentes espécies (Barbosa *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2015). O IBV possui características estruturais comuns de todos os CoV e adquire seu envelope lipídico através de gemações da membrana obtidas do retículo endoplasmático (Naranjo, 2012). Este vírus faz parte do grupo dos GamaCoV e é responsável pela produção de doenças entéricas, principalmente em aves domésticas como galinhas, afetando os sistemas gastrointestinal, respiratório, urinário e reprodutivo das aves, além de levar a taxas de mortalidade de até 30% e, quedas bruscas e repentinas na produção de ovos, portanto, o vírus impacta diretamente as indústrias avícolas, ocasionando perdas econômicas (Barbosa *et al.*, 2019; Naranjo, 2012). A doença é altamente contagiosa para galinhas de todas as idades, a replicação viral causa lesões em vários tipos de tecidos, destruindo as células que infecta e deixando o organismo mais susceptível a infecções bacterianas secundárias, geralmente *Escherichia coli*, que causa casos de aerosaculite e colibacilose (Torres, 2012; Naranjo, 2012).

Durante a infecção, a replicação viral tem início quando a glicoproteína S se liga aos receptores da célula hospedeira, no caso das aves os oligossacarídeos de ácido siálico ligados ao tecido traqueal, promovendo a fusão do envelope viral com a membrana celular ou com a membrana endossomal. Esse processo resulta na liberação do RNA viral no citoplasma (Naranjo, 2012; Simão, 2017).

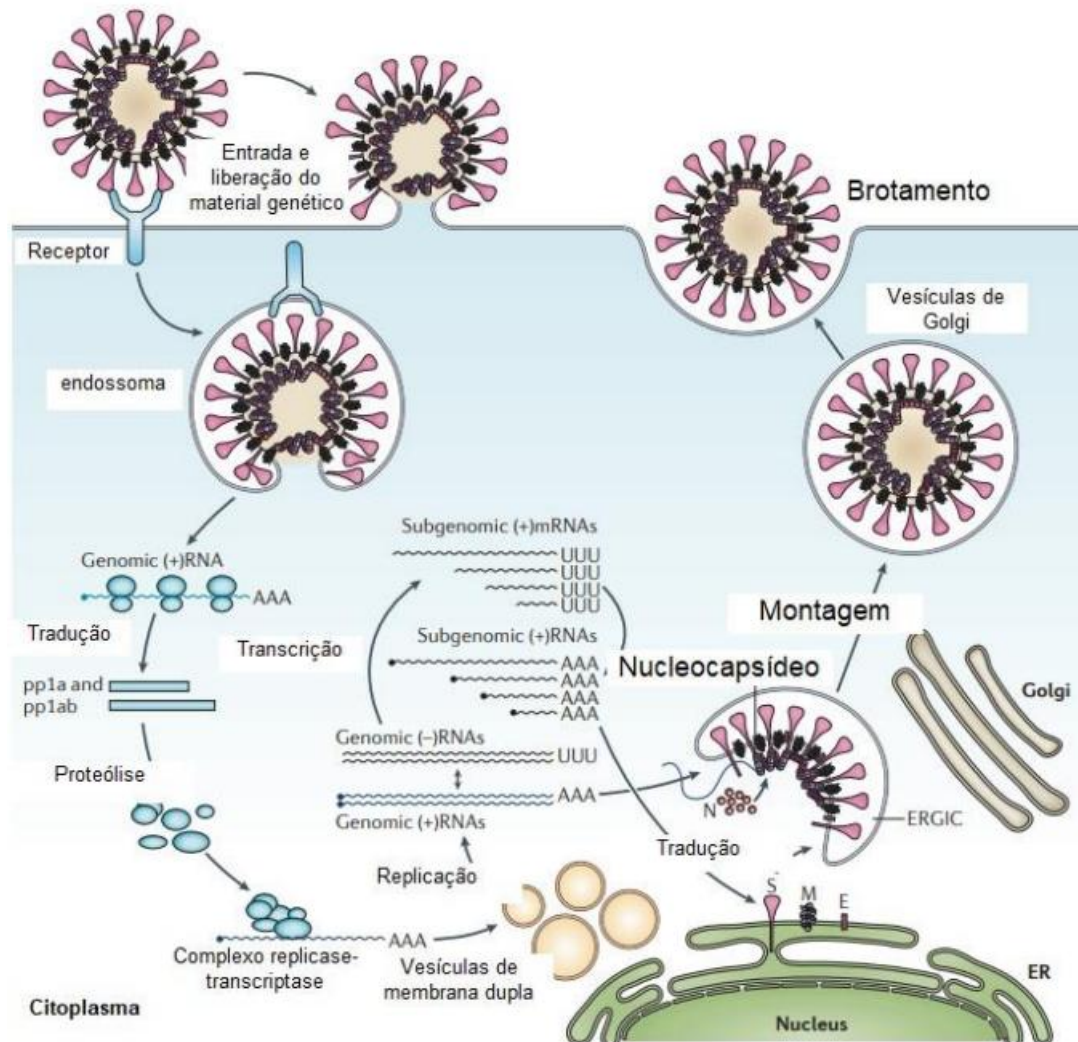
No caso do IBV, a fusão depende de um meio ácido, sendo o pH ideal em torno de 5,0 (Simão, 2017). Todo o processo de replicação ocorre no citoplasma, sem a formação de corpos de inclusão (Naranjo, 2012). Após o desnudamento viral e liberação do RNA, inicia-se a replicação (Simão, 2017) (Figura 5). Nesse estágio, o complexo replicase é traduzido na proteína RdRp, responsável pela transcrição de um RNA antígenômico (fita negativa), que servirá como molde para a síntese de novos RNAs genômicos, posteriormente incorporados às partículas virais (Simão, 2017). A RdRp também atua na produção de RNAs mensageiros subgenômicos (sgRNAs), que são

traduzidos em proteínas essenciais para a montagem do vírus (Simão, 2017; Felipe, 2011).

No total, são produzidos cinco RNAs mensageiros por um mecanismo descontínuo de transcrição, três deles codificam as proteínas estruturais S, M e N, enquanto os dois restantes codificam proteínas não estruturais de função ainda desconhecida e a proteína E (Naranjo, 2012). A tradução de cada RNA do vírus produz apenas um peptídeo, sendo que as glicoproteínas S e M são sintetizadas em polissomos associados ao retículo endoplasmático rugoso (RER), enquanto a proteína N e as proteínas não estruturais são sintetizadas em polissomos na matriz citoplasmática (Felipe, 2011).

Após a transcrição da proteína N, ela se liga ao RNA genômico e segue em direção ao RER no qual as proteínas M, E e S já estarão inseridas, a partir daí o conjunto passa pelo complexo de Golgi onde todas as proteínas serão associadas e formam vesículas que acumulam as partículas virais (Simão, 2017). Ao final do processo quando essas partículas se concentram são liberadas da célula infectada por lise celular, ou migração por meio de vesículas, em que as vesículas se fundem a membrana celular, ocorrendo a liberação do vírus (Naranjo, 2012).

Figura 5 - Esquema da replicação viral do IBV na célula do hospedeiro.



Fonte: Jarrah, 2024.

O IBV foi observado pela primeira vez em 1930, no estado da Dakota do Norte, Estados Unidos. No ano seguinte (1931), a partir da investigação dos sinais clínicos e de estudos laboratoriais preliminares, foi possível realizar a primeira descrição da doença (Naranjo, 2012). Em geral, a infecção tem início nas vias respiratórias, embora essa característica dependa da cepa viral, podendo o vírus também infectar outros órgãos, como rins, gônadas e intestino (Naranjo, 2012). As infecções causadas por CoV nem sempre estão associadas a sinais clínicos, uma vez que partículas virais já foram identificadas no intestino de aves assintomáticas, incluindo pavões, marrecos, pombos selvagens, gansos e patos-reais, além de diversas espécies silvestres mantidas em cativeiro (Torres, 2012). Na patogenia dos deltaCoV, as aves atuam principalmente como reservatórios, sendo capazes de transmitir o vírus, no entanto, as aves infectadas raramente apresentam sinais clínicos severos. Na maioria dos casos, esses vírus são

considerados endêmicos nas populações aviárias e, com frequência, não provocam manifestações clínicas significativas (Gasparetto, 2025).

2.2.2 Distribuição do CoV

Considerando a epidemiologia dos Gama e DeltaCoV, os GamaCoV têm sido encontrados predominantemente em aves da ordem Anseriformes, enquanto os DeltaCoV foram detectados em espécies pertencentes às ordens *Ciconiiformes*, *Pelecaniformes* e também *Anseriformes* (Chu et al., 2011; Chamings, 2018). De modo geral, o gênero GamaCoV é mais frequente no clado *Galloanserae*, enquanto o DeltaCoV ocorre com maior incidência em Neoaves (Chu et al., 2011). No Brasil, o gênero GamaCoV apresenta maior prevalência em aves comerciais e exibe um genótipo distinto em relação aos identificados em outros países (Simão, 2017).

A variabilidade do gamaCoV é enorme, e culmina no surgimento de uma imensa variedade de genótipos. O principal método para identificar variações é o sequenciamento do gene S1, no qual a maioria dos vírus apresenta alta similaridade com o IBV (Simão, 2017). As amostras positivas para GamaCoV apresentam maior número quando comparadas às detectadas para DeltaCoV, podendo infectar diferentes espécies das ordens Gruiformes, Passeriformes, Ciconiiformes, Anseriformes e Charadriiformes (Lima et al., 2015).

Dentre as espécies da ordem *Anseriformes* detectadas com gamaCoV estão: patos-assobiadores, patos-de-topete, marrequinhas-comuns e marrequinhas-do-norte, com sequências intimamente relacionadas com a cepa causadora do IBV, identificada em perus, pavões, pintail, gaivotas e em uma baleia Beluga doente (Chu et al., 2011). O GamaCoV foi o primeiro gênero a infectar mamíferos e, alguns anos depois, um segundo vírus do mesmo gênero foi identificado em golfinhos-roaz-do-Índico (*Tursiops aduncus*), cuja sequência da proteína S apresentava 74% de identidade com o vírus isolado da baleia-beluga (*Delphinapterus leucas*) (Gasparetto, 2025).

O gênero DeltaCoV foi identificado em garças-cinzentas, garças-de-lagoa, grandes corvos-marinhos e colhereiros-de-cara-preta, além de diversas espécies de patos (Chu et al., 2011). No entanto, a prevalência do GamaCoV em amostras de patos ainda é superior à de DeltaCoV, embora essa seja a única espécie conhecida suscetível à infecção por ambos os grupos (Chu et al., 2011). Também há registro do gênero em mamíferos,

tendo apenas uma espécie conhecida, denominada HKU15 (*Deltacoronavirus suis*), identificado em gato-leopardo, furão-texugo chinês e suínos. Análises genéticas do vírus encontrado nas aves denotaram uma proximidade com o gênero de mamíferos (Gasparetto, 2025; Durães-Carvalho *et al.*, 2015).

No Brasil, experimentos com amostras de GamaCoV e DeltaCoV coletadas nas regiões Sudeste e Sul detectaram a presença de GamaCoV em gansos-chineses (*Anser cygnoides*). Uma das amostras sequenciadas apresentou alta similaridade com sequências de GamaCoV intimamente relacionadas a vírus encontrados exclusivamente em aves migratórias. Já o DeltaCoV foi identificado em talha-mares (*Rynchops niger*), e outro coronavírus relacionado ao mesmo gênero foi detectado em outro indivíduo da mesma espécie (Barbosa, 2019). Além disso, amostras de *Calidris alba* e *Calidris fuscicollis* apresentaram GamaCoVs relacionados a estirpe restrita à de maçaricos (Barbosa, 2019).

De acordo com a topologia filogenética de GamaCoV, ela difere muito de Delta, isto porque os genes RdRp do gênero gama são geneticamente relacionados, e uma mesma espécie aviária pode conter vírus que são geneticamente heterogêneos ou muito semelhantes. Já deltaCoV apresenta ramificações filogenéticas distintas, indicando uma especificidade de hospedeiro maior e mais rigorosa em comparação com gama (Chu *et al.*, 2011).

Em estudos anteriores, novos CoV foram identificados e apresentaram forte similaridade genética com coronavírus de aves e mamíferos, porém com ramificações filogenéticas distintas, corroborando para a hipótese de que a ecologia de gama e deltaCoV podem ser muito diferentes (Chu *et al.*, 2011). Essas descobertas são importantíssimas, pois podem indicar que alguns desses coronavírus aviários podem ter circulado e coevoluído com ordens específicas ou subconjuntos de hospedeiros aviários (Chu *et al.*, 2011).

Mesmo que esses dados obtidos em estudos anteriores e descritos acima estejam intimamente relacionados com CoVs de aves, este grupo é amplo, incluindo furões, porcos, e leopardos, elucidando o evento de transbordamento entre CoVs de pássaros e de mamíferos (Barbosa, 2019). Esses dados são significativos para indicação de que há transmissão intergênero e interespecie frequente desse grupo dentro de espécies aviárias, e destacam uma ampla gama de hospedeiros, distribuição geográfica e diversidade de coronavírus aviários existentes, ilustrando seu impacto na saúde animal e um possível impacto futuro na saúde humana (Chu *et al.*, 2011; Lima *et al.*, 2015).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Detectar e caracterizar molecularmente os gêneros de Coronavírus, Delta e Gammacoronavírus, em amostras de aves selvagens provenientes do litoral paranaense.

3.2 Objetivos Específicos

- 3.2.1 Realizar a extração de RNA das amostras de coana e cloaca das aves;
- 3.2.2 Obter cDNA a partir do RNA extraído;
- 3.2.3 Realizar PCR convencional e nested-PCR para a detecção específica de coronavírus nas amostras de aves;
- 3.2.4 Purificar os amplicons e sequenciar o DNA com utilização do método de Sanger;
- 3.2.5 Analisar a positividade conforme o tipo de amostra biológica, período de coleta e espécie de ave identificada na PCR.

4 METODOLOGIA

4.1 Obtenção das Amostras

O estudo é resultado de uma parceria entre o Laboratório de Ecologia e Conservação do Centro de Estudos Marinhos da Universidade Federal do Paraná e a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná, no âmbito do projeto de monitoramento de praias da Bacia de Santos. Portanto, as amostras de variadas espécies aviárias foram coletadas no litoral do Paraná no ano de 2024, abrangendo cerca de 100 km, além de diversas áreas de acionamento. A coleta ocorreu utilizando diversos meios de transporte (a pé, bicicleta, carro e barco) levando em consideração animais que podiam estar vivos ou até mesmo em estágio avançado de decomposição. As amostras de swabs continham sítios de coleta de coana e cloaca. Após o recebimento do material biológico, as amostras foram triadas para o diagnóstico e o restante do volume aliquotado foi armazenado adequadamente no freezer -80°C.

4.2 Detecção viral de Pan-CoV

Para a reação de nested RT-PCR para Pan-Coronavírus (Pan-CoV), método empregado para a detecção de uma ampla gama de CoV, abrangendo diferentes gêneros e direcionado a regiões genômicas altamente conservadas, foi seguido o protocolo descrito por Chu et al. (2011), utilizando primers que se anelam à região RdRp do genoma viral (Tabela 1). O método empregado envolveu a síntese de uma cadeia de cDNA a partir do RNA extraído, conforme o protocolo do kit High Capacity (Thermo Scientific, Inc.), a mistura foi introduzida em um termociclador (modelo Veriti) durante 10 minutos a 25°C, seguidos de 2 horas a 37°C e 5 minutos a 85°C. As etapas subsequentes, a PCR e a nested-PCR, foram realizadas utilizando GoTaq Green Master Mix (M7123), de acordo com as recomendações do kit fornecido pelo fabricante Promega.

Tabela 1 - Desenho de primers para detecção molecular de Pan-CoV.

Primer	Sequência (5'-3')	Orientação	Alvo	Referência
Pan-CoV F	GGKTGGGAYTAYCCKAARTG	Sense	RdRp 602 pb	CHU <i>et al.</i> 2011
Pan-CoV R	CARGAYTTRTGRWSTCAYCA	Antisense		
N-PanCoV F	GGTTGGGAYTATCCTAARTGTGA	Sense	RdRp 440 pb	
N-PanCoV R	SCATCRTCAGASAGTATCATCAT	Antisense		

Fonte: Elaborado pela autora.

A programação no termociclador compreendeu uma etapa inicial a 95°C por 3 minutos, seguida por 40 ciclos a temperaturas de 95°C (45 segundos), 50°C (30 segundos) e 72°C (1 minuto). Finalmente, ocorreu uma extensão final a 72°C por 5 minutos. Os produtos resultantes da PCR foram submetidos a uma corrida eletroforética em gel de agarose a 1,4% por aproximadamente 1 hora, sendo a visualização dos amplicons realizada em um transiluminador UV (Loccus).

4.3 Purificação de DNA do Amplicon

As amostras com amplicons de tamanho esperado no gel de agarose foram purificadas novamente por beads magnéticas (Cytiva). Em 45 µL de produto de PCR, foram adicionados 90 µL de beads magnéticas em temperatura ambiente e misturadas com uma pipeta por 10 vezes. Após isso, aguardou-se uma incubação por 5 minutos e, então, os tubos foram alocados na estante magnética e incubados por mais 2 minutos. O líquido foi removido sem encostar nas beads, adicionou-se 200 µL de etanol 80% para lavagem e aguardou-se uma incubação por 30 segundos para a remoção do etanol. A lavagem foi repetida e todo o etanol removido, sendo que os tubos foram deixados para secar por 10 minutos em temperatura ambiente. Após o tempo, os tubos foram retirados da estante magnética e adicionou-se 20 µL de H₂O DEPC, homogeneizando em seguida com a pipeta e incubados por 5 minutos. Os tubos foram retornados para a estante magnética por 2 minutos e, então, o DNA eluído foi transferido para um novo tubo.

4.4 Big Dye e Sequenciamento de Sanger

Após a purificação de todas as amostras, foi realizada uma reação para sequenciamento com o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle (Applied Biosystems), em duplicata e completamente no gelo, seguindo as seguintes quantidades: 2,5 µL de H₂O Milli Q, 1,5 µL de Save, 2 µL de BigDye e 1 µL de N-PanCoV F ou N-PanCoV R (um mix para cada réplica). A ciclagem utilizada no termociclador foi a seguinte: uma etapa inicial de 96°C por 1 minuto seguida de 35 ciclos de 96°C por 15 segundos, 50°C por 15 segundos e 60°C por 4 minutos.

Para fins de precipitação, na placa da reação BigDye foi adicionado 2 µL de EDTA (125 mM), 2 µL de acetato de sódio (3 M), 50 µL de etanol 100%. Após isso, a placa foi agitada no vórtex e incubada longe da luz em temperatura ambiente. Depois de 15 minutos, a placa foi centrifugada por 30 minutos, 4000 rpm, a 4°C. O conteúdo foi descartado e uma nova centrifugação foi realizada com a placa virada em papel higiênico por 1 minuto, 1000 rpm. A seguir, foi adicionado 70 µL de etanol 70% e centrifugado por 15 minutos, 4000 rpm, o líquido foi descartado e mantido no papel durante outra centrifugação por 1 minuto, 1000 rpm, a 4°C. Por fim, aguardou-se a secagem total da placa em temperatura ambiente, por no mínimo 20 minutos.

Após a precipitação, adicionou 10 µL de formamida por poço e deixou a placa a 95°C por min. Em sequência, a placa ficou pelo menos 2 min no gelo e os fragmentos precipitados foram sequenciados no equipamento automático DNA The Spectrum Compact CE System (Promega), de acordo com o protocolo do fabricante.

5 RESULTADOS

5.1 Detecção das amostras de sítios de coana e cloaca de aves para Pan-CoV

O total das amostras testadas foi de 626, a grande maioria das amostras partiram de um mesmo indivíduo, com exceção de 24 amostras unitárias, totalizando 325 indivíduos incluídos no estudo. A grande maioria dos indivíduos eram juvenis, mas também alguns adultos e filhotes, outros as idades não foram identificadas. As amostras foram formadas por 313 swabs orais (50,0%), 292 swabs cloacais (46,6%), 19 swabs anais (3,0%), um swab retal (0,1%) e um swab intestinal (0,1%). As amostras partiram de aves das seguintes ordens: *Procellariiformes* (52/16,0%), *Charadriiformes* (73/22,4%), *Suliformes* (89/27,3%), *Pelecaniformes* (5/1,5%), e *Sphenisciformes* (106/32,6%). No total houve nove amostras positivas, sendo cinco (55,6%) de *Charadriiformes*, três (33,3%) de *Suliformes* e uma (11,1%) de *Procellariiformes*. Amostras de cloacas positivas correspondem a 88,9% e de coana 11,1%. As demais ordens de animais não apresentaram resultados positivos. Os resultados obtidos pela reação de PCR das amostras positivas estão descritos detalhadamente na tabela 2.

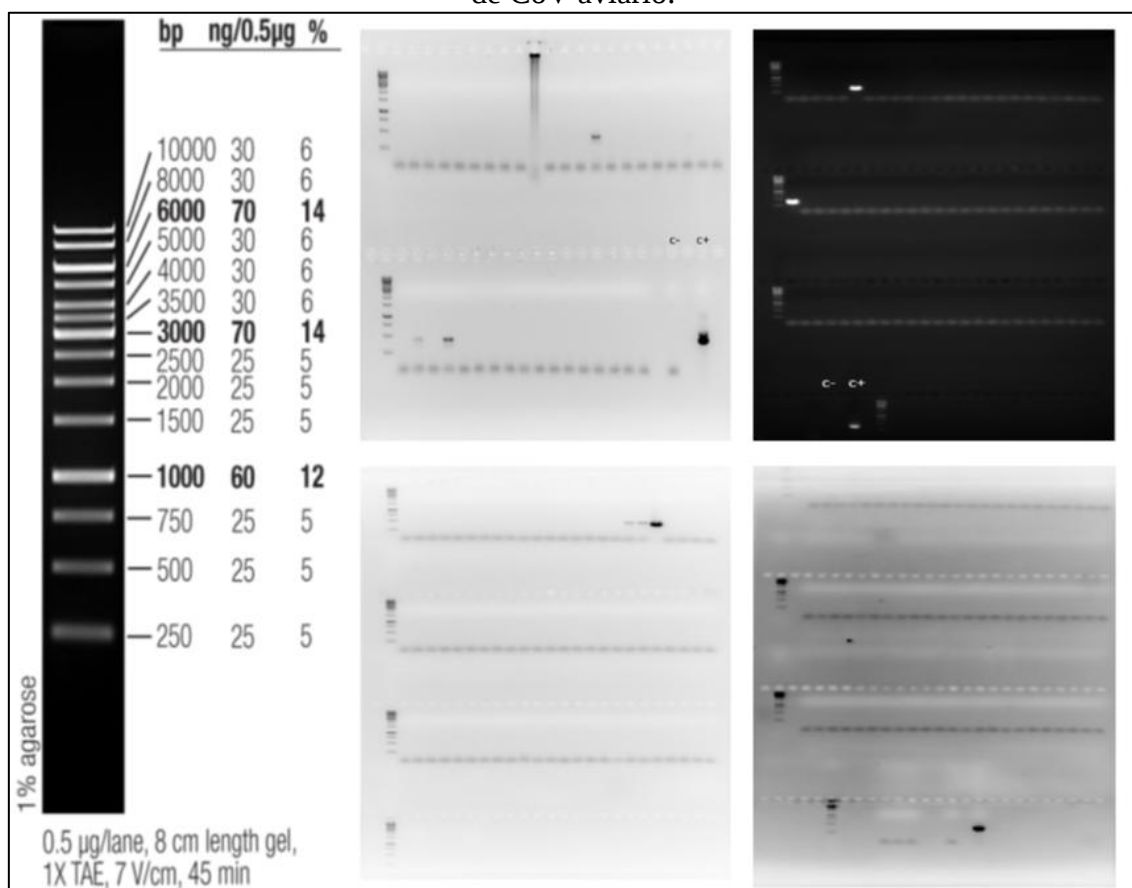
Tabela 2 - Amostras positivas no PCR para CoV aviário separadas por ordem animal.

Ordem	Espécie	Tipo de amostra
<i>Charadriiformes</i>	<i>Larus dominicanus</i> (Gaivotão/Juvenil)	Cloacal
<i>Charadriiformes</i>	<i>Larus dominicanus</i> (Gaivotão/Juvenil)	Cloacal
<i>Charadriiformes</i>	<i>Larus dominicanus</i> (Gaivotão/Juvenil)	Cloacal
<i>Charadriiformes</i>	<i>Larus dominicanus</i> (Gaivotão/Adulto)	Cloacal

<i>Charadriiformes</i>	<i>Larus dominicanus</i> (Gaivotão/Adulto)	Oral
<i>Suliformes</i>	<i>Sula leucogaster</i> (Atobá-pardo/Adulto)	Cloacal
<i>Suliformes</i>	<i>Sula leucogaster</i> (Atobá-pardo/Juvenil)	Cloacal
<i>Suliformes</i>	<i>Sula leucogaster</i> (Atobá-pardo/Juvenil)	Cloacal
<i>Procellariiformes</i>	<i>Thalassarche melanophris</i> (Albatroz-de-sobrancelha/Juvenil)	Cloacal

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 6 - Gel de agarose de amostras positivas pelo teste de nested-PCR para detecção de CoV aviário.



Fonte: Elaborado pela autora.

5.2 Sequenciamento de DNA

As amostras positivas (Figura 6) foram selecionadas e submetidas ao sequenciamento pelo método de Sanger, utilizando os primers descritos na tabela 1, cada amostra foi sequenciada com cada um dos primers, totalizando 18 amostras para sequenciamento. Quatro amostras demonstraram alta similaridade com o gênero delta, tendo prevalência de 44,4%, enquanto outras quatro amostras demonstraram alta similaridade com RdRp isolados de CoV aviário, mas sem identificação de gênero, tendo prevalência de 44,4%. Apenas uma das amostras não apresentou resultado satisfatório, não demonstrando similaridade com nenhuma sequência disponível no banco de dados, correspondendo a 11,1%. As amostras de DeltaCoV apresentaram de 83,6% a 98,4% de similaridade com CoVs aviários já descritos anteriormente.

Os indivíduos detectados com DeltaCoV foram *Larus dominicanus* e *Sula leucogaster*, conhecidos popularmente como gaivotão e atobá-pardo, respectivamente. Já a espécie que não obteve resultado satisfatório no sequenciamento foi *Thalassarche melanophris*, conhecido popularmente como albatroz-de-sobrancelha.

5.3 Análise de sequenciamento Pan-CoV no banco de dados *GenBank*

Após a detecção dos CoVs e análises do sequenciamento utilizando as sequências da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), observou-se que a maioria das amostras para as quais se obtiveram as sequências demonstraram alta similaridade com DeltaCoVs já descritos em literatura. Todas as sequências obtidas no estudo se agruparam com as sequências da RdRp disponíveis no banco de dados *GenBank*, uma delas apresentou 96,4% de similaridade com deltacoronavírus isolado da espécie *Larus dominicanus* na Antártica (ID da sequência: PP472094.1), mesma espécie utilizada no presente estudo. Já outra apresentou similaridade de 83,6% com o gene da poliproteína orf1ab (RdRp) do coronavírus detectado na gaivota-glaucha (ID da sequência: GU396674.1), mas sem direcionamento de gênero.

Três sequências presentes no estudo se agruparam com as seguintes sequências no banco de dados:

TGGTTGGGACTATCCTAAGTGTGACCGTTCTATGCCTAACATACTACGCATT		
GCTGCCTC	/	TGAATTGCCTCTGTAA-

TGTCATCATAGATGGTACGATGCAAATTCATTACATCGACGTC /
CTGTAAATGTCATCATAGATGGTACKATGCAAATTCATTACATCGACGTCTT
GATGGACT. A primeira sequência foi obtida da espécie *Larus dominicanus* da Antártica, enquanto as duas últimas foram sequenciadas de CoV aviários isolados. O sequenciamento ocorreu no Brasil pela Fiocruz, no ano de 2022 e 2023, e correspondem ao gênero Delta, evidenciando a circulação do gênero pelas aves que chegam no país.

6. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no estudo evidenciam a circulação de CoV aviários em aves migratórias que circulam pelo Brasil, demonstrando seu papel potencial como disseminadoras do vírus (Carvalho, 2015). O que foi visto no presente estudo é que uma única espécie de ave apresentou variedade de CoV geneticamente distintos, no caso, tanto *Larus dominicanus* quanto *Sula leucogaster* apresentaram sequências que demonstraram similaridade com o gênero delta e o gene RdRp disponíveis no banco de dados, embora neste último caso não tenham apresentado direcionamento quanto ao gênero de CoV. Além disso, é importante salientar que as amostras testadas não apresentaram similaridade com sequências do gênero gama. Como já descrito em literatura, uma única espécie pode, de fato, apresentar variedades de CoVs geneticamente distintos, podendo, eventualmente, se tornar vetores de CoVs através de fronteiras nacionais e intercontinentais (Carvalho, 2015; Lima, 2015).

Devido à alta capacidade adaptativa, ampla distribuição e potencial recombinação de material genético do vírus, as características favorecem a ampla diversidade genômica do vírus encontrados em aves (Nogueira, 2020). E as aves podem gerar uma patogenicidade de vírus através do ambiente em que vivem (Nogueira, 2020).

Aves selvagens de vida livre estão em contato frequente com uma variedade de espécies, levando a eventos de transmissão interespecífica, pelos quais os vírus evoluem e se desenvolvem, ocasionando surgimento de novos vírus emergentes (Barbosa, 2019; Carvalho, 2015).

Considerando o risco de troca de hospedeiros entre espécies e a possibilidade de adaptação a novos hospedeiros (Durães-Carvalho et al., 2015), os estudos epidemiológicos baseados em aves silvestres são de extrema importância para a saúde pública. Essas aves podem ser infectadas por uma ampla variedade de organismos, patogênicos ou não, que possuem potencial evolutivo e, eventualmente, podem infectar

seres humanos (Carvalho, 2015). Além disso, devido à capacidade de carrear diferentes microrganismos, há o risco de estabelecimento de novos focos endêmicos de doenças ao longo das rotas migratórias. Esses fatores têm contribuído para o constante surgimento de diversas variantes de CoVs, resultando em um hospedeiro persistente que pode se tornar relevante para a população humana (Carvalho, 2015).

CONCLUSÃO

O presente estudo detectou a presença de CoV aviário circulando em aves migratórias que chegam ao Brasil, a maioria pertencente à ordem *Charadriiformes*, com predomínio do gênero Deltacoronavirus, mas também com a detecção de outros CoVs aviário.

Considerando o hábito migratório dessas aves e o contato frequente com diferentes espécies, o que pode favorecer a troca de hospedeiros, torna-se necessário ampliar os estudos de monitoramento epidemiológico para mapear a circulação desses vírus no território nacional, especialmente diante da escassez de informações sobre a ocorrência de coronavírus em aves na América do Sul.

Além disso, tais estudos são essenciais para elucidar aspectos da epidemiologia viral, compreender as rotas migratórias envolvidas e avaliar a proximidade dessas aves com áreas urbanas, uma vez que eventos de recombinação viral podem representar risco potencial à população humana.

REFERÊNCIAS

ALANAGREH L, ALZOUGHLOOL F, ATOUM M. The Human Coronavirus Disease COVID-19: Its Origin, Characteristics, and Insights into Potential Drugs and Its Mechanisms. *Pathogens*. 2020 Apr 29;9(5):331. doi: 10.3390/pathogens9050331.

BARBOSA, C. M. Coronavírus em aves silvestres e domésticas provenientes de diferentes regiões do Brasil. 2015 f.62 Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

BARBOSA, C. M. Análise filogenética dos coronavírus aviários isolados em diferentes regiões do Brasil. 2019. 70f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019.

BARBOSA, C. M. *et al.* Divergent coronaviruses detected in wild birds in Brazil, including a central park in São Paulo. *Brazilian Journal Of Microbiology*, v. 50, n. 2, p. 547-556, 15 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-019-00065-7>.

BORTOLETTI, M. Understanding SARS-CoV-2 and the drugs that might lessen its power. *The economist*, 12 mar. 2020. https://www.economist.com/briefing/2020/03/12/understanding-sars-cov-2-and-the-drugs-that-might-lessen-its-power?utm_campaign=shared_article.

BUITRAGO, L. Y. V. Detecção de um coronavírus entérico aviário em aves de corte, poedeiras comerciais e matrizes: distribuição, diversidade molecular e diagnóstico diferencial com outros vírus entéricos aviários. [Detection of an enteric coronavirus in broiler chickens, laying hens and broiler breeders: distribution, molecular diversity and differential diagnosis with other avian enteric viruses]. 2006. 96 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CARVALHO, R. D. Investigação e caracterização filogenética de Coronavírus na biota de aves silvestres e sinantrópicas provenientes da região Sul e Sudeste do Brasil. 2015.

73 f. Tese (Doutorado) - Curso de Microbiologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.

CHAMINGS, A. *et al.* Detection and characterisation of coronaviruses in migratory and non-migratory Australian wild birds. *Scientific Reports*, v. 8, n. 1, 13 abr. 2018. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-24407-x>.

CHU, D. K. W. *et al.* Avian Coronavirus in Wild Aquatic Birds. *Journal Of Virology*, v. 85, n. 23, p. 12815-12820, dez. 2011. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.05838-11>.

DURÃES-CARVALHO, R. *et al.* Coronaviruses Detected in Brazilian Wild Birds Reveal Close Evolutionary Relationships with Beta- and Deltacoronaviruses Isolated From Mammals. *Journal Of Molecular Evolution*, v. 81, n. 1-2, p. 21-23, ago. 2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00239-015-9693-9>.

FELIPPE, P. A. N. Coronavírus e metapneumovírus aviários em aves domésticas e silvestres do Brasil: caracterização molecular e filogenética. 2011. Tese (Doutorado). [sn].

FIORAVANTI, C. Novo coronavírus acelera produção e difusão científica. **Revista Pesquisa Fapesp**, fev. 2020. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/novo-coronavirus-acelera-producao-e-difusao-cientifica/>. Acesso em: 11 out. 2025.

GASPARETTO, R. Monitoramento de paramixovírus e coronavírus em aves migratórias no litoral do Rio Grande do Sul, Brasil. Porto Alegre, 2025. 59 f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária.

JARRAH, Samar Afif. Estudo sorológico de sars-cov-2 em cães, gatos e aniamis silvestres. 2024. 94 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, 2024.

LIMA, F. E. S. *et al.* Diverse gammacoronaviruses detected in wild birds from Madagascar. *European Journal Of Wildlife Research*, v. 61, n. 4, p. 635-639, 22 maio

2015. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s10344-015-0931-7>.

NARANJO, L. F. N. Isolamento e propagação de Astrovírus, Adenovírus, Coronavírus, Parvovírus, Rotavírus e Reovírus de aves comerciais com problemas entéricos em ovos embrionados. [Isolation and propagation of Astrovirus, Adenovirus, Coronavirus, Parvovirus, Rotavirus and Reovirus from commercial poultry with enteric problems in embryonated eggs]. 2012. 146 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

NOGUEIRA, G. N. Coronavirus em aves acuáticas. Kuxulkab', [S.L.], v. 26, n. 56, p. 51-59, 5 out. 2020. Universidad Juarez Autonoma de Tabasco. <http://dx.doi.org/10.19136/kuxulkab.a26n56.3822>.

SIMÃO, R. M. Detecção e caracterização de coronavírus aviário em aves silvestres de cativeiro. 2017. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

THOMAZELLI, L. M. *et al.* Molecular surveillance of the Newcastle disease virus in domestic and wild birds on the North Eastern Coast and Amazon biome of Brazil. Revista Brasileira de Ciência Avícola, v. 14, n. 1, p. 01-07, mar. 2012. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1516-635x2012000100001>.