

# Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina 3

Lais Daiene Cosmoski  
(Organizadora)



# Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina 3

Lais Daiene Cosmoski  
(Organizadora)



2019 by Atena Editora  
Copyright © Atena Editora  
Copyright do Texto © 2019 Os Autores  
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora  
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira  
Diagramação: Natália Sandrini  
Edição de Arte: Lorena Prestes  
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

### Conselho Editorial

#### Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá  
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima  
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão  
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste  
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia  
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano  
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia  
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

### Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás  
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri  
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

### Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto  
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí  
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará  
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

<b>Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)</b>	
D569	Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina 3 [recurso eletrônico] / Organizadora Lais Daiene Cosmoski. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Difusão do conhecimento através das diferentes áreas da medicina; v. 3)  Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-882-3 DOI 10.22533/at.ed.823192312  1. Medicina – Pesquisa – Brasil. 2. Saúde - Brasil. 3. Diagnóstico. I. Cosmoski, Lais Daiene. II. Série.  CDD 610.9
<b>Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422</b>	

Atena Editora  
Ponta Grossa – Paraná - Brasil  
[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)  
contato@atenaeditora.com.br

## APRESENTAÇÃO

Cada vez mais percebemos, que no mundo da ciência, principalmente da área da saúde, nenhuma profissão trabalha sozinha, é necessário que vários profissionais estão envolvidos e engajados em conjunto, prezando pela, prevenção, diagnóstico e tratamento de diversas patologias, visando sempre a qualidade de vida da população em geral.

A Coletânea Nacional “Difusão do Conhecimento Através das Diferentes Áreas da Medicina” é um *e-book* composto por 4 volumes artigos científicos, que abordam relatos de caso, avaliações e pesquisas sobre doenças já conhecidas da sociedade, trata ainda de casos conforme a região demográfica, onde os locais de realização dos estudos estão localizados em nosso país, trata também do desenvolvimento de novas tecnologias para prevenção, diagnóstico e tratamento de algumas patologias.

Abordamos também o lado pessoal e psicológico dos envolvidos nos cuidados dos indivíduos, mostrando que além dos acometidos pelas doenças, aqueles que os cuidam também merecem atenção.

Os artigos elencados neste *e-book* contribuirão para esclarecer que ambas as profissões desempenham papel fundamental e conjunto para manutenção da saúde da população e caminham em paralelo para que a para que a ciência continue evoluindo para estas áreas de conhecimento.

Desejo a todos uma excelente leitura!

Lais Daiene Cosmoski

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
USO DO ULTRASSOM TERAPÊUTICO NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO TECIDUAL EM ANIMAIS- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
Lívia Carolina de Souza Dantas	
Célio Fernando de Sousa Rodrigues	
Fabiano Timbo Barbosa	
Amanda Karine Barros Ferreira Rodrigues	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923121</b>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>12</b>
A UTILIZAÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL E LACTANTE	
Erivan de Souza Oliveira	
Marcela Feitosa Matos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923122</b>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>21</b>
CajaDB: A DATABASE OF COMMON MARMOSETS ( <i>Callithrix jacchus</i> )	
Viviane Brito Nogueira	
Danilo Oliveira Imparato	
Sandro José de Souza	
Maria Bernardete Cordeiro de Sousa	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923123</b>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>33</b>
CAPACITAÇÃO EM GINÁSTICA LABORAL NA PREVENÇÃO DE DORT'S PARA AGENTES COMUNITÁRIO DE SAÚDE	
Daniel de Souza Reis	
Arthur Gontijo de Lacerda	
Caroline Domingos Pierazzo	
Danilo Pereira Lima Santos	
Fernanda Alves Correia	
Hanne Saad Carrijo Tannous	
Kenzo Holayama Alvarenga	
Karina Rezende Nascimento	
Leonardo Faria Ornella Torres	
Larissa Fonseca Tavares	
Matheus Alves de Castro	
Rafaela Fernandes Palhares	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923124</b>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>38</b>
ACCURACY OF ULTRASOUND FOR DETECTING LIVER METASTASIS XENOGRAPTS IN NUDE MICE	
Caroline Corrêa de Tullio Augusto Roque	
Eduardo Nóbrega Pereira Lima	
Rubens Chojniak	
Bruno de Tullio Augusto Roque Lima	
Tiago Goss dos Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.8231923125</b>	

**CAPÍTULO 6 ..... 52**

ESTIMULAÇÃO DO CRESCIMENTO DE CÉLULAS NERVOSAS UTILIZANDO *Rosmarinus officinalis* (ALECRIM)

Eliza Wedja Santos de Sales  
Ducivânia da Silva Tenório  
Jamicelly Rayanna Gomes da Silva  
Maria Eduarda Silva Amorim  
Camilla Isabella Ferreira Silva  
Stéphanie Camilla Vasconcelos Tavares  
Nayane Monalys Silva de Lima  
Aline de Moura Borba  
Victória Júlya Alves de Albuquerque  
Joanne Cordeiro de Lima Couto  
Cynthia Gisele de Oliveira Coimbra  
Risonildo Pereira Cordeiro

**DOI 10.22533/at.ed.8231923126**

**CAPÍTULO 7 ..... 68**

EFFECTS OF INTRA-ABDOMINAL PRESSURE IN RAT LUNG TISSUE AFTER PNEUMOPERITONEUM

Julio Cezar Mendes Brandão  
Itamar Souza Oliveira Junior  
Luiz Fernando Dos Reis Falcao  
David Ferez  
Masashi Munechika Masashi  
Luciana Cristina Teixeira  
Vanessa Coelho Gaspar  
Carla Andria Dato

**DOI 10.22533/at.ed.8231923127**

**CAPÍTULO 8 ..... 83**

ESTUDO HISTOLÓGICO DA EXPRESSÃO DA AQUAPORINA 2 EM NERVO FACIAL DE RATOS

Luiza de Almeida Gondra Limeira  
José Ricardo Gurgel Testa  
Andrei Borin  
Luciene Covolan  
Felipe Costa Neiva  
Maria Regina Regis Silva

**DOI 10.22533/at.ed.8231923128**

**CAPÍTULO 9 ..... 111**

NOROVÍRUS MURINO: UM AGENTE PREVALENTE EM CAMUNDONGOS

Daniele Masselli Rodrigues Demolin  
Josélia Cristina de Oliveira Moreira  
Rovilson Gilioli  
Marcus Alexandre Finzi Corat

**DOI 10.22533/at.ed.8231923129**

**CAPÍTULO 10 ..... 140**

NUTRIÇÃO FUNCIONAL COMO ESTRATÉGIA NO TRATAMENTO DE DOENÇAS: USO DA BANANA VERDE

Fabíola Pansani Maniglia

**DOI 10.22533/at.ed.82319231210**

**CAPÍTULO 11 ..... 148**

DENGUE GRAVE: REVISÃO DO ESTADO DA ARTE FOCADA NA IDENTIFICAÇÃO DE BIOMARCADORES PRECOSES DE GRAVIDADE

Bianca De Santis Gonçalves  
Marco Aurélio Pereira Horta  
Rita Maria Ribeiro Nogueira  
Ana Maria Bispo de Filippis

**DOI 10.22533/at.ed.82319231211**

**CAPÍTULO 12 ..... 161**

A UTILIZAÇÃO DO ROBÔ R1T1 E DO EQUIPAMENTO ASPCERR COMO AUXILIAR NO PROCESSO PRÉ-OPERATÓRIO DO TRANSPLATE DE ORGÃO HEPÁTICO

Antonio Henrique Dianin  
Rodolfo dos Reis Tártaro  
Gracinda de Lourdes Jorge  
Aurea Maria Oliveira da Silva  
Elaine Cristina de Ataíde  
Ilka de Fátima Santana Ferreira Boin

**DOI 10.22533/at.ed.82319231212**

**CAPÍTULO 13 ..... 176**

VANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DO AFASTADOR FLEXÍVEL DE FÍGADO NO BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Raquel Mourisca Rabelo  
Gilberto Daniel Travecedo Ramos  
Clara Taís Tomaz de Oliveira  
Miriana Sousa Carneiro  
Bruna Sousa Ribeiro  
Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante  
Gilberto Esteban Travecedo Cervantes

**DOI 10.22533/at.ed.82319231213**

**CAPÍTULO 14 ..... 178**

ESTUDO PROSPECTIVO DE EVENTOS TROMBOEMBÓLICOS APÓS REOPERAÇÕES DE ALTA COMPLEXIDADE EM ESTIMULAÇÃO CARDÍACA ARTIFICIAL DEFINITIVA

Caio Marcos de Moraes Albertini  
Katia Regina da Silva  
Marcia Fernandes Lima  
Joaquim Maurício da Motta Leal Filho  
Martino Martinelli Filho  
Roberto Costa

**DOI 10.22533/at.ed.82319231214**

**CAPÍTULO 15 ..... 194**

EVOLUÇÃO DAS ANASTOMOSES MANUAIS COM BYPASS GÁSTRICO ROBÓTICO

Raquel Mourisca Rabelo  
Gilberto Daniel Travecedo Ramos  
Clara Taís Tomaz de Oliveira  
Miriana Sousa Carneiro  
Bruna Sousa Ribeiro  
Maria Vitoria Evangelista Benevides Cavalcante  
Gilberto Esteban Travecedo Cervantes

**DOI 10.22533/at.ed.82319231215**

<b>CAPÍTULO 16</b> .....	<b>196</b>
GESTAÇÃO NA ADOLESCÊNCIA: OPORTUNIDADE PARA A PROMOÇÃO DE HÁBITOS ALIMENTARES SAUDÁVEIS	
Ana Rafaella de Padua Lima Tatiana Honório Garcia Roberta Lamonatto Taglietti Carla Rosane Paz Arruda Teo	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231216</b>	
<b>CAPÍTULO 17</b> .....	<b>210</b>
AVALIAÇÃO DE ESPIRITUALIDADE E RELIGIOSIDADE EM ESTUDANTES DE MEDICINA DURANTE VIVÊNCIA DE CUIDADOS PALIATIVOS	
Anderson Acioli Soares Alberto Gorayeb de Carvalho Ferreira Suzana Lins da Silva Mirella Rebello Bezerra Maria de Fátima Costa Caminha	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231217</b>	
<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>224</b>
AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA RELIGIOSIDADE NA VIDA DE ESTUDANTES UNIVERSITÁRIOS COM ANSIEDADE E DEPRESSÃO	
Leonardo Estevan Rosa Caldas Rosivânia de Sousa Carvalho Rodrigo Marques Campelo Laíse de Paula Maitelli Isabella de Oliveira Bom Emanuel Mattioni Arrial Hugo Dias Hoffmann Santos	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231218</b>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>239</b>
DOR FÍSICA E EMOCIONAL DE TRABALHADORAS DA ENFERMAGEM: UMA EXPERIÊNCIA COM UM PROGRAMA ADAPTADO DE MINDFULNESS (PAM) NO CONTEXTO HOSPITALAR	
Shirlene Aparecida Lopes Vicente Sarubbi Junior Marcelo Marcos Piva Demarzo Maria do Patrocínio Tenório Nunes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231219</b>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>256</b>
ESPIRITUALIDADE DOS ESTUDANTES DE MEDICINA: ASSOCIAÇÕES COM EMPATIA E ATITUDE NA RELAÇÃO MÉDICO-PACIENTE	
Julianni Bernardelli Lacombe	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231220</b>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>266</b>
O FORTALECIMENTO DE REDES SOCIAIS EM IDOSOS COM BAIXO DESEMPENHO NO MINI EXAME DE ESTADO MENTAL	
Tiago Guimarães Reis Ana Carolina Neves Santiago Kelly Vargas Londe Ribeiro de Almeida Marilene Rivany Nunes	
<b>DOI 10.22533/at.ed.82319231221</b>	

**CAPÍTULO 22 ..... 273**

**PROJETO SAÚDE NA ESCOLA: DESMISTIFICANDO A SEXUALIDADE**

Natane Miquelante  
Ana Carolina de Lacerda  
Camila Rita de Souza Bertoloni  
Fernanda Ribeiro e Fonseca  
Mateus Lacerda Medeiros da Silva  
Thiago de Deus Cunha  
Camila Magalhães Coelho  
Rafael Rosa Marques Gomes Melo  
Cristal Pedroso Costa  
Lauriane Ferreira Morlin  
Ana Carolina Ruela Vieira  
José Diogo David de Souza

**DOI 10.22533/at.ed.82319231222**

**SOBRE A ORGANIZADORA..... 277**

**ÍNDICE REMISSIVO ..... 278**

## NOROVÍRUS MURINO: UM AGENTE PREVALENTE EM CAMUNDONGOS

Data de aceite: 19/11/2018

### **Daniele Masselli Rodrigues Demolin**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Josélia Cristina de Oliveira Moreira**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Rovilson Gilioli**

Universidade Estadual de Campinas - Centro  
Multidisciplinar para Investigação Biológica na  
Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

### **Marcus Alexandre Finzi Corat**

Universidade Estadual de Campinas/UNICAMP -  
Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica  
na Área da Ciência de Animais de Laboratório –  
CEMIB, Campinas-SP.

**RESUMO: Introdução:** Norovírus são vírus RNA ss+, não envelopados, associados a importantes causas de epidemias de gastroenterites, comumente encontradas em seres humanos e com distribuição mundial. Afetam também espécies animais como: bovinos, suínos, cães e roedores. Norovírus murino (MNV) é descrito

como o mais recente agente infeccioso capaz de acometer animais de laboratório. Devido a sua prevalência e o potencial de interferência em resultados experimentais, às informações a respeito deste patógeno tornam-se importantes na pesquisa médico-biológica. **Objetivos:** Avaliar a ocorrência da infecção por MNV em colônias de camundongos nas cinco regiões do Brasil. **Resultados:** Das amostras de fezes analisadas por RT-PCR para a região conservada do gene do capsídeo viral (VP1), 86% (175/584) apresentaram-se positivas. A análise da região conservada do gene do capsídeo viral demonstrou uma identidade de nucleotídeos entre 83% a 99%. Para o isolamento deste vírus, células RAW 264.7 foram inoculadas com suspensão fecal de uma linhagem geneticamente modificada e um efeito citopático sugestivo de infecção por MNV foi observado. O isolamento viral foi confirmado por RT-PCR o que nos permitiu estabelecer a técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Das mostras testadas por IFI, 26,54% (219/825) apresentaram anticorpos específicos anti-MNV. **Conclusão:** Este é o primeiro relato da identificação de MNV em colônias de camundongos em biotérios brasileiros, evidenciando a importância da implantação de um programa de monitoramento sanitário em

nosso país.

**PALAVRAS-CHAVE:** Norovírus murino, Biotérios brasileiros, Monitoramento sanitário, Saúde animal.

## MURINE NOROVIRUS: A PREVALENT AGENT IN MICE

**ABSTRACT: Introduction:** Norovirus is a non-enveloped, positive-sense RNA virus associated to epidemic causes of gastroenteritis in humans and worldwide distributed. Affects animal species as cattle, dogs, sheep, pigs and rodents. Murine norovirus (MNV) is the most recent infectious agent in laboratory mice. Because your worldwide prevalence, and its potential to interfere in experimental studies, bring out information about norovirus and its surveillance turns an important assignment in scientific research. **Objective:** To evaluate the occurrence of MNV infection in mouse colonies in five regions of Brazil. **Results:** A positivity index of 29,96% (175/584) was obtained in mouse fecal samples by reverse transcriptase polymerase chain reaction for a conserved region of the viral capsid gene in ORF2 region. Analysis of the conserved region of the viral capsid gene demonstrated a nucleotide identity of 83% to 99%. To isolate MNV, RAW 264.7 cells were inoculated with fecal suspension of a genetically modified strain and a suggestive cytopathic effect of MNV infection was obtained and confirmed by RT-PCR. Viral isolation allowed us to establish the indirect immunofluorescence technique. A percentage of 26.54% (219/825) of samples tested showed anti-MNV specific antibodies. **Conclusion:** Our studies was the first to report comprehensively the identification of MNV in mouse colonies of Brazilian facilities, evidencing the relevance in implantation the health monitoring program in our country and with that, support our biomedical scientific research through screenings of this pathogen in Brazil and comparatively in the world.

**KEYWORDS:** Murine Norovirus; Brazilian animal facilities, Health monitoring and animal health.

## 1 | INTRODUÇÃO

### 1.1 Contexto Histórico – Norovírus Humano (HuNoV)

Agentes infecciosos como bactérias, parasitas e vírus, estão associados com grande parte dos quadros de diarreia aguda, comumente conhecidos como gastroenterites. Estes quadros são caracterizados por um processo inflamatório da mucosa intestinal e tem se tornado uma das maiores causas de mortalidade e de grande importância na saúde pública<sup>(68)</sup>. Os vírus associados a gastroenterites têm aumentado progressivamente e pertencem a famílias distintas como: *Reoviridae* (Rotavírus), *Caliciviridae* (Norovírus e Sapovírus), *Astroviridae* (Astrovírus)

e *Adenoviridae* (Adenovírus), *Picobirnaviridae* (Picobirnavírus), *Cardiovirus* (Picornavírus) e *Parvoviridae* (Bocavírus) <sup>(105)</sup>. Estes vírus são altamente infecciosos e levam à surtos relacionados a infecções transmitidas por água e alimentos contaminados, fômites ou transmissão via contato direto <sup>(40, 41)</sup>. São comumente encontrados em hospitais, escolas e creches, navios transatlânticos e em casas de repouso. Apesar de afetarem indivíduos de todas as idades, altas taxas de mortalidade e morbidade podem ser observadas em crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos <sup>(68, 61)</sup>.

Atualmente são descritos mais de 30 genótipos, sendo que aproximadamente 60% dos surtos são causados pelo genótipo GII.4 <sup>(12)</sup>. E estes causam um importante impacto econômico em países desenvolvidos e subdesenvolvidos <sup>(6)</sup>. Em função deste impacto, muitos investimentos têm sido realizados na busca por uma vacina capaz de bloquear a infecção. Dados atuais relatam a eficiência de uma vacina capaz de elicitar uma resposta para anticorpos neutralizantes. Esta compreende uma mistura de moléculas candidatas como as VLP's (*virus-like particles*) de cepas protótipos e altamente circulantes na população. Dados deste estudo, em fase clínica demonstram que estas induzem uma rápida resposta de bloqueio por anticorpos, são capazes de ativar células de memória e demonstram ser altamente promissoras <sup>(8, 57)</sup>.

Até pouco tempo vacinas utilizando vírus morto ou atenuado não estavam em desenvolvimento devido à falta de um sistema de cultura celular efetivo para HuNoV. Porém com a recente descoberta de que enteróides intestinais humanos (HIE) suportam a replicação viral de HuNoV, novas possibilidades surgem no sentido de se produzir uma vacina que forneça imunização totalmente efetiva <sup>(107)</sup>.

## 1.2 Classificação

De acordo com a reestruturação taxonômica proposta pelo Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV), realizada recentemente, todos os vírus com genoma viral constituído de RNA ss<sup>+</sup>; RNA ss<sup>-</sup> e RNA<sup>ds</sup> pertencem a um grupo monofilético (*Realm*) denominado *Riboviria*. Neste contexto, se encaixam os Norovírus, que compreendem a família *Caliciviridae*, dividida em dez gêneros: Bavovírus (Bavaria virus); *Vesivirus* (Feline Calicivirus e *Vesicular Exanthema of Swine Virus*), *Lagovirus* (*Rabbit hemorrhagic disease vírus* e *European brown hare syndrome vírus*); *Sapovirus* (*Sapporo virus*), *Nebovirus* (*Newbury-1 virus*); *Minovirus* (*Minovirus A*); *Nacovirus* (*Navovirus A*), *Recovirus* (*Recovirus A*), *Salovirus* (*Nordland vírus*), *Valovirus* (*Saint Valerian vírus*), *Norovirus* (*Norwalk virus*) <sup>(98)</sup>.

Membros do gênero Norovírus acometem uma grande variedade de espécies hospedeiras que incluem: bovinos, ovinos, suínos, felinos, cães e roedores <sup>(85)</sup>.

Atualmente, o gênero é classificado em sete genogrupos (GI – GVII), baseado na sequência de aminoácidos das proteínas do capsídeo viral (VP1) <sup>(28, 97)</sup>. No entanto, estes genogrupos são subdivididos em genótipos ou *clusters*, baseados na similaridade genética entre eles.

Os genogrupos I, II e IV compreendem os genótipos encontrados em seres humanos. As infecções pelo GI e GII são responsáveis pela maioria das doenças em humanos, enquanto as infecções associadas pelo genótipo GII.4 ocorrem com maior frequência e apresentam-se como uma das maiores causas das gastroenterites epidêmicas ou esporádicas <sup>(28, 53, 43, 61, 97)</sup>. O genogrupo GIII inclui vírus identificados em bovinos <sup>(73)</sup>, enquanto aqueles identificados em suínos estão classificados no genogrupo GII <sup>(90, 99)</sup>. O GIV consiste em dois genótipos GIV.1 que infectam humanos e GIV.2 que infectam felinos e caninos <sup>(28, 62)</sup>.

O genogrupo GV inclui vírus detectados em roedores <sup>(32, 44, 97)</sup>. Vírus que infectam cães também estão inseridos no genogrupo VI <sup>(81)</sup> e recentemente um novo genogrupo foi proposto para esta espécie, denominado GVII <sup>(97)</sup>.

Devido à diversidade genética e a capacidade de recombinação dos Norovírus, juntamente com a contínua pressão seletiva exercida pelo sistema imune, uma nomenclatura unificada de genotipagem tem sido proposta, sugerindo a inclusão de sequências da ORF1 (*open reading frame*) para melhor identificação de cepas relacionadas <sup>(53, 81)</sup>.

### 1.3 Características gerais

Norovírus são vírus pequenos, não envelopados, com diâmetro entre 27 e 40 nm, e capsídeo com simetria icosaédrica <sup>(28)</sup>. As partículas virais são altamente resistentes, mantêm a infectividade em pH 2,7 por até 3 horas em temperatura ambiente. A viabilidade também é mantida após tratamento com éter 20% a 4°C por 18 horas ou ainda à incubação a 60°C por 30 minutos. As concentrações de hipoclorito de sódio de 5.000ppm por 1 minuto ou 3.000ppm por 10 minutos foram consideradas eficientes na inativação de Norovírus, juntamente com a utilização de glutaraldeído e iodo. São resistentes à desinfecção por amônia quaternária, solventes orgânicos, etanol 75% e hipoclorito de sódio a 300ppm. Irradiação ionizante (ultravioleta) e não-ionizante (gama) mostrou inativar alguns *Calicivírus*, embora não haja relatos específicos da eficiência deste método para o norovírus murino (MNV) <sup>(31)</sup>.

Recentemente com a descoberta de dois sistemas de cultura celular (células B e HIE) de HuNoV, testes de eficiência de inativação por cloro e álcool puderam ser realizados e os resultados mostraram que a utilização do cloro na concentração de 50ppm é efetiva na inativação do HuNoV - GII <sup>(13,15)</sup>.

### 1.3.1 Organização genômica

O genoma viral, com 7,5 kb de tamanho, é constituído de uma molécula linear de RNA fita simples, com polaridade positiva (RNAss<sup>+</sup>) <sup>(28)</sup>.

No geral, os vírus pertencentes ao gênero norovirus possuem um genoma constituído de três ORFs (*open reading frame*), com exceção do norovírus murino (MNV) que apresenta uma ORF alternativa (Figura 1). A ORF1 é traduzida em uma poliproteína de 194 kDa, que é clivada por uma protease viral (NS6) e produz seis proteínas não estruturais (NS), incluindo a própria NS6 <sup>(89)</sup>. As proteínas não estruturais incluem a RNA polimerase - dependente de RNA (NS7), a NS5/VPg, a NS3/NTPase/RNA helicase, a NS1/2 e NS4, que estão envolvidas no processo de formação do complexo de replicação <sup>(35,36)</sup>.

A ORF2 e a ORF3 são traduzidas a partir de um RNA subgenômico e codificam as proteínas do capsídeo viral, VP1 e VP2, respectivamente. A VP1 é uma proteína estrutural de 60 kDa e, com papel importante na replicação do vírus. A VP2, uma proteína estrutural de menor tamanho, com 23 kDa, interage com o RNA genômico durante a formação do vírion <sup>(40)</sup>.

Apenas os MNVs apresentam uma região de leitura alternativa, ORF4, que se sobrepõe a ORF2. Esta é responsável por codificar uma proteína conhecida como VF1 (*virulence factor 1*), relacionada a funções regulatórias do sistema imune do hospedeiro e virulência <sup>(94)</sup>.

Assim como outros RNA vírus, a extremidade 5' do genoma é covalentemente ligada a uma proteína conhecida como VPg (*genome-linked viral protein*), de 13 a 15 kDa e com aproximadamente 22 aminoácidos. Por outro lado, a extremidade 3', apresenta uma cauda poliadenilada (poli-A), com 46 a 78 nucleotídeos, com uma estrutura *stem-loop* responsável por interagir com algumas proteínas celulares, entre elas a nucleolina <sup>(1)</sup>. Há evidências que estas estruturas secundárias conservadas, presentes nas regiões 5' e 3' são importantes no processo de replicação, formação do RNA subgenômico, tradução e patogênese viral <sup>(1, 3)</sup>.

O RNA subgenômico, produzido durante a replicação, apresenta uma sequência de 2,4Kb na porção final do RNA genômico, covalentemente ligado a uma VPg na região 5' e a uma cauda poliadenilada na região 3' <sup>(40)</sup>.

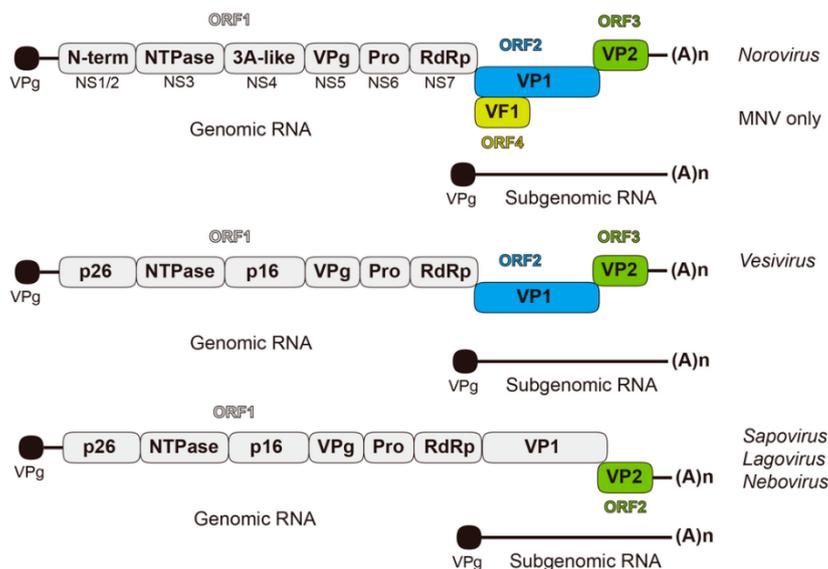


Figura 1: Organização do RNA genômico e subgenômico dos vírus pertencentes à família Caliciviridae. Fonte: Royal & Locker, 2016 (83).

### 1.3.2 Proteínas virais

#### 1.3.2.1 Proteínas não estruturais

#### p48 (NS1/2)

É uma proteína não estrutural, codificada na extremidade N-terminal da ORF1 e que apresenta uma variabilidade em tamanho e sequências de aminoácidos entre os vírus do genogrupo I (48kDa) e genogrupo II (37kDa) <sup>(20)</sup>. Estudos anteriores sugerem que esta proteína pode estar relacionada a interação dos Norovírus com o complexo de Golgi, apresentando importante papel no trânsito intracelular de proteínas virais, assim como no rearranjo das membranas vesiculares, associada com a replicação do RNA viral <sup>(20, 22)</sup>. A NS1/2 é processada durante os estágios tardios da infecção viral por caspases celulares ativadas por apoptose <sup>(89)</sup>.

#### NS3/p41 (p40) NTPase

Classificada na superfamília das RNA helicases, com peso molecular de 41 kDa e 40 kDa apresenta a capacidade de hidrolisar ATP, sugerindo sua atividade NTPase, porém não apresenta uma atividade de helicase <sup>(20)</sup>.

#### NS4/p22 (p20) /3A-like

Similar a proteína 3A dos Picornavírus, é responsável por codificar estruturas conservadas que mimetizam os sinais envolvidos com o trânsito entre o retículo endoplasmático e a fragmentação do complexo de Golgi. <sup>(85)</sup>. Atua como antagonista nas vias de secreção celular, sugerindo um novo aspecto na interação vírus e hospedeiro <sup>(69)</sup>.

## NS5/VPg

A maioria dos membros pertencentes à família *Caliciviridae* apresentam na região 5', estruturas secundárias conservadas, importantes no processo de replicação viral <sup>(1)</sup>. A VPg (*genome-linked viral protein*) é uma proteína de aproximadamente 15kDa, com aproximadamente 22 aminoácidos e que se encontra covalentemente ligada ao RNA genômico e subgenômico. Estruturalmente, apresenta um núcleo helicoidal que é flanqueado por regiões flexíveis N- e C-terminais <sup>(55)</sup>.

Estudos realizados nos gêneros Norovírus murino (cepa MNV-1 CW1), NV (NC1959) e *Feline calicivirus* (FCV) demonstraram a interação da VPg com proteínas celulares do hospedeiro no ciclo de vida viral, sugerindo, portanto, um novo mecanismo de iniciação do processo de tradução <sup>(87)</sup>. A VPg também é importante na regulação dos eventos iniciais da transcrição e tradução do RNA viral. Dados obtidos de estudos com o vírus *Norwalk* têm demonstrado a sua importante função no recrutamento de fatores de iniciação da tradução. Em Norovírus humano (HuNoV) e MNV, as VPgs interagem com os componentes do complexo eIF4F, em particular eIF4E e eIF4A, um componente da família das RNA helicases <sup>(94, 25)</sup>, assim como eIF3, uma proteína envolvida no recrutamento do complexo de pré-iniciação <sup>(16)</sup>.

## NS6/3CL<sup>pro</sup>

Os Norovírus codificam uma protease, denominada 3C-like (3CL<sup>pro</sup>), devido a sua similaridade com a proteína 3C dos Picornavírus <sup>(30)</sup>. Sua função está associada a clivagem da poliproteína codificada pela ORF1, dando origem as proteínas não-estruturais do Norovírus.

Kuyumcu-Martinez *et al.* <sup>(54)</sup> reportou a inibição da síntese de proteínas celulares em Norovírus recombinantes e estes dados demonstraram ser importantes na modulação da expressão gênica celular e viral <sup>(30)</sup>.

## RdRp (NS7)

A RNA polimerase dependente de RNA (RpRd) dos Calicivírus está relacionada com as enzimas presentes nos vírus da família *Picornaviridae*, como exemplo a 3D polimerase (3Dpol), a qual tem sido utilizada como modelo comparativo. As RpRd se estendem do aminoácido 1281 até a extremidade carboxi-terminal da ORF1. Apresenta elementos estruturais e características catalíticas, assim como em outros vírus de RNA de polaridade positiva <sup>(30)</sup>. As estratégias de processamento proteolítico da poliproteína codificada pela ORF1 são capazes de gerar tanto proteínas precursoras como produtos de clivagem enzimática, aumentando a capacidade dos vírus em produzir enzimas com funções replicativas. Estudos

enzimáticos com proteínas recombinantes confirmam que o precursor 3CL<sup>pro</sup>-RdRp apresenta atividade como protease e polimerase <sup>(7)</sup>.

### 1.3.2.2 Proteínas Estruturais

#### VP1

As partículas virais são compostas por 90 dímeros da proteína do capsídeo, a VP1. Codificada pela ORF2, peso molecular entre 58 e 60 kDa e, apresenta de 530 a 555 resíduos de aminoácidos <sup>(30)</sup>.

Possui dois domínios principais, o domínio S (*shell*) e o domínio P (*protruding*). O domínio S, com uma sequência conservada de 225 aminoácidos, contém oito cadeias antiparalelas do tipo  $\beta$ , comumente encontradas em proteínas do capsídeo viral e formam a estrutura icosaédrica <sup>(38)</sup>. O domínio P, com uma sequência variável de 127 aminoácidos, interage formando dímeros, que estabilizam o capsídeo e formam as protruções características do vírion <sup>(30, 40)</sup>. É organizado em dois subdomínios: P1 e P2, sendo que do ponto de vista conformacional, o subdomínio P2 localiza-se externamente na superfície do capsídeo. Contém sítios de ligação que são reconhecidos por anticorpos neutralizantes e representam importantes determinantes da virulência e antigenicidade viral, assim como demonstrado nas interações entre os antígenos do grupo ABO e o Norovírus nas infecções em humanos <sup>(91)</sup>.

Altas taxas de mutação podem ser demonstradas neste subdomínio <sup>(17)</sup> e no modelo MNV a substituição de um único aminoácido, pode estar associada à atenuação da infecção *in vivo* <sup>(4)</sup>.

A proteína VP1 quando expressa em células de inseto a partir de baculovírus recombinante, é capaz de realizar a montagem de VLPs. Estruturalmente e antigenicamente mimetizam o vírus, embora não possuam o genoma viral. Esta oligomerização, ou automontagem da partícula, também pode ocorrer sem a presença do domínio P <sup>(7)</sup>.

#### VF1

A proteína VF1 é encontrada apenas em Norovírus murino e alguns Sapovírus. É codificada por uma região de leitura alternativa, denominada ORF4, que se sobrepõe a ORF2, sendo expressa por um RNA subgenômico. Durante a infecção viral, a VF1 pode ser encontrada nas mitocôndrias que apresentam um importante papel na sinalização da resposta imune inata, através de proteínas de membrana, denominadas proteína de sinalização antiviral mitocondrial (MAVS) <sup>(63)</sup>. Estas proteínas apresentam um domínio N-terminal *CARD-like* e um domínio de transmembrana C-terminal e estão envolvidas na ativação de NF- $\kappa$ B e IRF3 na resposta a infecção viral, demonstrando o envolvimento das mitocôndrias na imunidade

inata<sup>(86)</sup>.

Análises funcionais têm demonstrado que a VF1 apresenta um papel antagônico na resposta imune inata, por impedir a regulação de genes celulares ativadas pela via inata, como o interferon  $\beta$ . Em estudos *in vitro*, utilizando células RAW 264.7, as funções relacionadas ao controle da apoptose, foram observadas durante a infecção viral na ausência da expressão da ORF4. Por outro lado, em experimentos *in vivo*, com camundongos STAT1<sup>-/-</sup> infectados com um vírus mutante para a expressão da ORF4, observou-se uma expressão tardia para os sintomas clínicos, demonstrando, portanto, seu papel na virulência viral <sup>(63)</sup>.

## VP2

A VP2 é uma proteína codificada pela ORF3 e apresenta de 208 a 268 resíduos de aminoácidos. Com peso molecular entre 22 a 29 kDa e exibe uma grande variabilidade no tamanho e na composição da sequência de nucleotídeos entre os vírus da mesma família <sup>(30)</sup>. Evidências do papel da VP2 sugerem sua contribuição no aumento da expressão da VP1, na estabilização das VLPs e no empacotamento do genoma viral <sup>(9)</sup>.

Há indícios que os mecanismos envolvidos no processo de tradução ocorram via um mecanismo denominado “terminação-reiniciação” (TTR), ou seja, que o evento de tradução da VP1 via RNA subgenômico ocorre através das interações na região 3' que favorecem o recrutamento de fatores de iniciação de transcrição para a região 5' – VP2 <sup>(64)</sup>. Estes dados suportam a ideia de que a síntese da VP2 é regulada pela VP1.

Alguns estudos também revelam que a VP2 está envolvida na indução da resposta imune protetora, por regular a maturação de células apresentadoras de antígenos <sup>(106)</sup>.

### 1.3.3 Replicação viral

Os mecanismos envolvidos na replicação viral do Norovírus humano (HuNoV) têm sido elucidados pela utilização de outros membros da família *Caliciviridae*, como o Calicivírus felino (FCV) e o MNV <sup>(100)</sup>.

As estratégias de replicação do Norovírus são bem semelhantes aos vírus RNAss<sup>+</sup> e ocorre pela síntese de uma fita intermediária de polaridade negativa que serve como molde para a produção do RNA genômico a partir da RNA polimerase - RNA dependente (RpRd), uma enzima altamente conservada entre os vírus de RNA <sup>(28)</sup>.

Na primeira etapa da replicação, ocorre a adsorção do vírion aos receptores de superfície celular que envolve diferentes estruturas de carboidratos. O Norovírus

humano (HuNoV) liga-se a antígenos do grupo de histocompatibilidade sanguínea (HBGA: *histo-blood group antigens*) que neste caso, ligam-se ao subdomínio P2 do capsídeo viral, altamente variável, formando uma interface com a cadeia de oligossacarídeos dos antígenos <sup>(94)</sup>.

Por outro lado, o Norovírus murino liga-se aos radicais de ácido siálico, glicolipídeos e glicoproteínas e a entrada do vírus na célula hospedeira ocorre pelo processo endocítico, mediado por proteínas como dinamina e colesterol <sup>(23)</sup>. Estudos recentes têm demonstrado que receptores proteicos, membros da família CD300 tem mediado a ligação do MNV a superfície celular juntamente a cofatores moleculares presentes nos fluidos biológicos <sup>(74)</sup>.

Após a internalização e o desnudamento do genoma viral, inicia-se a tradução. A ORF1 codifica uma poliproteína que é sintetizada pela clivagem proteolítica de uma protease viral, NS6 e, resulta na liberação de proteínas não estruturais para formar o complexo de replicação no citoplasma da célula hospedeira <sup>(84)</sup>.

A formação deste complexo ocorre pela indução de proteínas não estruturais p48 (NS1-2) e p22 (NS4), e envolve membranas da célula hospedeira e proteínas que são redistribuídas e modificadas durante a infecção viral <sup>(35, 94)</sup>. Estas membranas são derivadas do retículo endoplasmático, complexo de Golgi e endossomos <sup>(36, 89)</sup>. Entretanto, a interação entre estas organelas e o complexo de replicação durante a infecção viral pode induzir a ativação de sensores da imunidade inata <sup>(84)</sup>.

Recentemente, foi demonstrado que este complexo de replicação envolve uma rede citoesquelética, através da organização dos microtúbulos em conjunto com a RNA polimerase viral (NS7) <sup>(35)</sup>. Apenas quando este complexo é formado, a RdRp (NS7) começa a síntese do RNA polaridade negativa a partir do RNA genômico, cujo mecanismo é dependente da interação entre a VPg e a RdRp, que se ligam através de pontes fosfodiéster junto ao nucleotídeo inicial guanidina, presente nos membros da família *Caliciviridae*, sendo o processo conhecido como “guanilação” <sup>(104)</sup>.

Já a síntese do RNA subgenômico que é traduzido em proteínas estruturais, VP1, VP2 e VF1 no caso de MNV, pode ocorrer por dois mecanismos distintos: um deles pode estar associado à interação de uma estrutura *stem-loop* da VP1, juntamente com a RpRd viral <sup>(104)</sup> ou por um processo denominado de terminação “prematura” da replicação do RNA polaridade negativa, através de um sinal de terminação <sup>(64)</sup>. As proteínas estruturais são montadas e empacotam o RNA genômico formando as partículas virais maduras. A liberação dos vírions ocorre após a lise celular <sup>(94)</sup>.

### 1.3.4 Patogênese

A patogênese da infecção pelo Norovírus humano tem sido dificultada pela incapacidade da propagação do vírus *in vitro* <sup>(18)</sup>. Modelos animais têm contribuído na elucidação destes mecanismos. Dentre eles, apenas o Norovírus murino se replica em cultura de células <sup>(92, 101)</sup>. O tropismo celular do HuNoV *in vivo* ainda não está bem esclarecido, embora haja evidências de que os enterócitos da porção proximal do intestino delgado representam o sítio de replicação, devido à presença do antígeno viral nestas células <sup>(42)</sup>.

Dados recentes reportam que os Norovírus são capazes de infectar, especificamente células imunes da lâmina própria e folículos linfóides, incluindo placas de Peyer <sup>(42)</sup>, como demonstrado em bovinos e camundongos, e que também se replicam em células dendríticas, macrófagos e células B <sup>(100)</sup>.

Esforços por parte da comunidade científica foram realizados para o cultivo *in vitro* de HuNoV <sup>(18)</sup>. A replicação em células B foi evidenciada pelo aumento do número de cópias e título viral, sugerindo que NoV faz transcitose, ou seja, atravessam o epitélio intestinal acessando as células alvo do sistema imune <sup>(37, 41)</sup>, porém outros estudos são necessários para que se determine um método de cultura reprodutível para o HuNoV. <sup>(27)</sup>.

Células epiteliais intestinais denominadas enteróides ou HIE (*Human Intestinal enteroids*) geradas nas criptas intestinais e isoladas de tecido intestinal humano parecem ser promissoras no sistema de replicação do HuNoV <sup>(10,19,39)</sup>.

Karst & Wobus <sup>(42)</sup> propuseram um modelo da infecção intestinal por Norovírus, demonstrando que as células M, presentes em placas de peyer, apresentam um receptor para imunoglobulinas A (IgA), e ligam-se à patógenos formando um complexo capaz de atravessar a barreira epitelial por um mecanismo de transporte vesicular transepitelial, conhecido por endocitose.

Embora acredita-se que a infecção por Norovírus seja restrita ao intestino, estudos detectaram o RNA viral no soro de 15% de indivíduos infectados <sup>(40)</sup>, no entanto, o mecanismo da disseminação viral para os tecidos periféricos é pouco conhecido. Estudos com o MNV mostraram que o tropismo por células dendríticas é capaz de facilitar a sua disseminação extra intestinal para os linfonodos mesentéricos <sup>(40)</sup>.

### 1.3.5 Métodos de Diagnóstico

O Norovírus foi primeiramente identificado pela utilização da microscopia eletrônica (ME) e imunomicroscopia eletrônica (IME) <sup>(38)</sup>. Outros métodos de diagnóstico também podem ser utilizados, embora a clonagem e o sequenciamento

do genoma do *Norwalk* vírus <sup>(103)</sup> permitiu o desenvolvimento de métodos moleculares para a detecção do vírus nas amostras de fezes nos surtos de gastroenterite <sup>(76)</sup>.

### 1.3.6 Métodos moleculares

Os ensaios de PCR em tempo real (RT-qPCR) e RT-PCR puderam ser desenvolvidos e como testes altamente sensíveis, mostraram-se capazes de diferenciar os genogrupos e determinar a carga viral <sup>(29, 52, 81, 102)</sup>. Entretanto, com a descoberta de novas cepas virais e, com o aumento no número de sequências acessíveis, novos protocolos têm sido utilizados com o objetivo de identificar novas cepas circulantes. Ensaios qRT-PCR baseados no sistema TaqMan tem sido amplamente utilizado por conta de sua sensibilidade e especificidade, sendo capazes de detectar entre 10 a 100 cópias/g de amostra <sup>(51)</sup>.

Atualmente, metodologias moleculares, como o NGS (*Next generating sequencing*) tem se tornado uma importante ferramenta, pois permite identificar uma diversidade viral em diferentes amostras e compará-la com o viroma e microbioma, que por sua vez podem influenciar na transmissão e expressão da infecção causada pelo NoV <sup>(14)</sup>.

### 1.3.7 Métodos enzimáticos

Ensaios imunoenzimáticos como ELISA (*Enzyme linked immunosorbent assay*), Imunofluorescência Indireta (IFI) e o ensaio fluorescente multiplexado (MFIA) tem sido importantes ferramentas para a triagem de amostras de soro, assim como contribuem para estimar a prevalência da infecção por norovírus e detectar cepas antigenicamente distintas <sup>(26, 34; 49; 50, 82)</sup>, embora amostras com resultados negativos devem ser confirmadas por uma segunda metodologia.

No caso do norovírus humano vários testes enzimáticos de terceira geração, recomendados pelo FDA (*Food and Drug Administration*) estão disponíveis no mercado comercial <sup>(81)</sup>.

Ensaios fluorescentes multiplexados, que utilizam a tecnologia Luminex têm sido utilizados no diagnóstico de infecções pelo norovírus murino (MNV), por ser um teste automatizado e mais sensível do que as reações de ELISA <sup>(80)</sup>.

## 2 | NOROVÍRUS MURINO (MNV)

A descoberta do Norovírus murino (MNV) abriu caminhos nos estudos de replicação viral, mecanismos de patogenicidade, interação vírus-hospedeiro e no desenvolvimento de metodologias para o diagnóstico deste patógeno. Até pouco

tempo, o conhecimento sobre a patogênese da infecção pelo Norovírus humano tem sido dificultado pela incapacidade da propagação do vírus *in vitro* <sup>(18)</sup>. O uso de diferentes modelos animais tem contribuído na elucidação dos mecanismos de patogenicidade dos Norovírus. Desses modelos experimentais, em potencial, apenas o Norovírus murino se replica em cultura de células<sup>(92,100)</sup>.

MNV foi descrito pela primeira vez em 2003 por Karst e colaboradores<sup>(44)</sup>, em camundongos *knockout* para os genes RAG2 (*recombination activating gene*) e STAT-1 (*signal transducer and activator of transcription 1*). Estes camundongos, reconhecidos como RAG 2/STAT-1<sup>-/-</sup>, desenvolviam uma doença sistêmica causada por um patógeno desconhecido, mas que poderia ser transmitida por inoculações intracerebrais sucessivas. A análise do cérebro destes animais apresentou resultados negativos para patógenos humanos e murinos sabidamente conhecidos. Outras linhagens *knockout* para receptores de interferon  $\alpha\beta\gamma$  (IFN $\alpha\beta\gamma$ R<sup>-/-</sup>) quando infectadas também sucumbiam a infecção após 30 dias, demonstrando, portanto, o papel dos interferons na resistência à infecção. Sinais clínicos de encefalite, vasculite, pneumonia e hepatite foram descritos <sup>(44)</sup>.

A análise da sequência de nucleotídeos demonstrou homologia à regiões do genoma dos Calicivírus e posteriormente foi nomeado Norovírus murino 1 (MNV-1) <sup>(44)</sup>. Após a descoberta do MNV-1, três novas cepas de MNV foram descritas: MNV-2; MNV-3 e MNV-4, que são capazes de induzir infecção persistente, enquanto MNV-1 induz infecção transiente <sup>(33)</sup>. As cepas de MNV descritas até então apresentam uma identidade de nucleotídeos em torno de 87% a 94,1%, demonstrando regiões altamente conservadas, assim como características biológicas homólogas quando comparadas a sequência MNV-1, porém divergem quando comparadas com Norovírus humano e bovino <sup>(93)</sup>.

Thackray e colaboradores <sup>(93)</sup> analisaram 26 sequências genômicas de MNV e observaram alta homologia nos primeiros 32 nucleotídeos da região 5' e 64 nucleotídeos da junção ORF1 e ORF2, assim como nos 47 nucleotídeos da ORF2, quando comparados entre as cepas descritas. Embora fosse possível verificar 13% de divergência, todas as sequências foram incluídas em um único genogrupo, genótipo e sorotipo.

A identificação da presença do MNV em camundongos RAG/STAT1<sup>-/-</sup> contribuiu para o estudo dos mecanismos envolvidos na resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro, demonstrando que STAT1<sup>-/-</sup> é um fator preponderante no controle da infecção, desde que camundongos deficientes para STAT1<sup>-/-</sup> apresentem altos títulos virais <sup>(42)</sup>.

Vários estudos foram realizados para verificar a habilidade deste vírus em induzir doença clínica. Camundongos com expressão normal do gene STAT1 e deficientes para o gene RAG1 e RAG2 foram inoculados pelas vias: oral, nasal e

intracranial, mas 90 dias após a inoculação não sucumbiram à infecção <sup>(44)</sup>.

O gene ativador de recombinação (RAG) é essencial na produção de linfócitos T e B maduros, que por sua vez são componentes do sistema imune adaptativo. Estes genes codificam proteínas conhecidas como RAG1 e RAG2 que permitem a recombinação dos genes VDJ, envolvidos na maturação de células T e B. Por outro lado, as proteínas ativadoras da transcrição e sinal de transdução (STAT), pertencem à família de proteínas citoplasmáticas envolvidas no desenvolvimento e função do sistema imune e são ativadas na presença de polipeptídeos extracelulares. Estas apresentam a função de inibir a replicação viral e apoptose, resultando em uma baixa disseminação viral <sup>(67)</sup>.

Camundongos RAG<sup>-/-</sup>, são capazes de fazer a infecção persistente com excreção de partículas virais infecciosas por períodos prolongados, indicando que a imunidade adaptativa não é necessária à proteção contra o desenvolvimento da doença <sup>(77)</sup>. Wobus e colaboradores <sup>(100)</sup> demonstraram a importância do sistema imune inato na infecção por MNV-1, devido ao *clearance* viral observado em linhagens de camundongos imunocompetentes.

A infecção por MNV-1 em camundongos imunocompetentes demonstra que o vírus é capaz de replicar e disseminar por vários órgãos como: baço, pulmão, fígado e linfonodos mesentéricos. Análises histológicas permitiram observar a presença de uma enterite leve, hipertrofia da polpa vermelha e polpa branca do baço após 72 horas de infecção e infiltrado inflamatório em hepatócitos <sup>(44, 67)</sup>.

O sistema imune inato também tem papel importante na resistência à infecção por MNV. Camundongos deficientes para IFN tipo I (IFN $\alpha\beta$ ) e IFN tipo II (IFN $\gamma$ ) quando infectados pelo MNV são capazes de resistir a infecção, mas quando apresentam deficiência para ambos os tipos de interferon, a infecção é letal, sugerindo um possível mecanismo de compensação entre a resposta IFN I e II na resistência à infecção que de certa forma são capazes de controlar a disseminação viral para os tecidos periféricos <sup>(44)</sup>. Diante destes fatos acredita-se que indivíduos com deficiência na resposta imune inata podem desenvolver a doença com sintomas mais graves. Além disso, a variação genética dos receptores aos Norovírus é um fator importante quanto à susceptibilidade à infecção <sup>(101)</sup>.

O conhecimento *in vitro* e *in vivo* da replicação viral e as patologias das diferentes sequências genômicas de MNV, mesmo pertencentes ao mesmo genogrupo contribuíram no entendimento das diferenças genéticas entre elas. Assim como em Norovírus humano, há evidências de recombinação entre as cepas de MNV, sugerindo a possibilidade do surgimento de cepas geneticamente distintas. <sup>(66)</sup>. Da mesma forma, sugere-se a possibilidade de co-infecção entre as cepas de MNV <sup>(31, 46)</sup>.

Estudos imunohistoquímicos revelaram que MNV apresenta um tropismo por

células de origem mononuclear; macrófagos e células dendríticas <sup>(67, 100)</sup>. Baseado nestes relatos foi possível identificar uma linhagem celular permissiva, denominada RAW 264.7, originária de células imortalizadas de macrófagos de camundongos, transformadas pelo vírus da leucemia de Abelson e que permitiu a propagação *in vitro* do MNV. Estes achados contribuíram significativamente para os estudos relacionados a biologia e patogênese do Norovírus, utilizando o MNV como principal modelo <sup>(100)</sup>.

Assim como em seres humanos, estudos epidemiológicos têm demonstrado que o Norovírus animal apresenta distribuição mundial <sup>(85)</sup>. Países da América do Norte, Europa e Ásia têm descrito a alta prevalência da infecção por MNV em colônias de camundongos <sup>(26, 31, 34, 42, 47, 48, 49, 66, 77, 78)</sup>. Estes dados apontam para um grande impacto do potencial deste vírus em interferir em resultados experimentais que utilizam modelos animais, como já demonstrados por alguns autores <sup>(56, 75)</sup>.

## 2.1 Norovírus em *Rattus norvegicus*

Após a identificação de MNV e os relatos de sua prevalência em camundongos <sup>(48,60)</sup>, pesquisadores passaram a procurar evidências de NoVs em colônias de ratos <sup>(21, 88, 95)</sup> visto que, este modelo animal também é amplamente utilizado na pesquisa biomédica.

Tsunesumi e colaboradores (2012) descreveram a presença de NoV em ratos silvestres do gênero *Rattus rattus* e *Apodemus speciosus* <sup>(96)</sup>. Em seguida, Tse e colaboradores <sup>(95)</sup> identificaram dois isolados de NoV em *Rattus norvegicus*. Com organização típica de NoV, o genoma viral tem aproximadamente 7.541pb, dividido em três regiões abertas de leitura (ORF1, ORF2 e ORF3). A primeira descrição de Norovírus em colônias de ratos foi realizada recentemente pelo nosso grupo de trabalho. Neste estudo, o isolamento do vírus em células permissivas RAW264.7 e o desenvolvimento de um semi-nested RT-PCR, permitiu o diagnóstico de Norovírus e a implantação de uma rotina de monitoramento sanitário para este agente. A prevalência viral obtida pelo semi-nested RT-PCR e pela sorologia, foi de 11% e 11,45%, respectivamente em colônias de ratos mantidos em biotérios brasileiros <sup>(65)</sup>. O isolamento viral permitiu o depósito da cepa brasileira de RatNoV no GenBank sob número de acesso KU 169124.

## 3 | JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

OCEMIB (Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na área da Ciência de Animais de Laboratório) é um biotério localizado na UNICAMP (Universidade Estadual de Campinas) com um importante papel e atuação no fornecimento de modelos de animais certificados do ponto de vista sanitário e genético para

a pesquisa médico-biológica realizada pela comunidade científica. Neste sentido, o Laboratório de Controle de Qualidade Sanitária Animal (LCQSA) do CEMIB desenvolve atividades voltadas ao monitoramento sanitário de camundongos e ratos por meio da pesquisa de patógenos primários e oportunistas capazes de influenciar e alterar resultados experimentais e por consequência gerando trabalhos científicos não confiáveis e não reproduzíveis.

O LCQSA é membro efetivo do *ICLAS Laboratory Animal Quality Network (Performance Evaluation Program for Diagnostic Laboratories-PEP)*. Este programa criado em 2006 com iniciativa do ICLAS (*International Council for Laboratory Animal Science*), junto a laboratórios de outros países envolvidos no monitoramento da saúde de animais de laboratório, tem como objetivo manter a qualidade dos animais utilizados nas pesquisas científicas e avaliar a confiabilidade e sensibilidade dos métodos de diagnóstico laboratoriais adotados pelos laboratórios participantes.

Neste contexto, o laboratório tem continuamente envidado esforços para implantação e melhoria de novas técnicas de diagnóstico com a proposta de identificar agentes patogênicos emergentes ou re-emergentes e prevalentes nas colônias de animais de laboratório.

Relatos da infecção por MNV, foram primeiramente descritos por Hsu *et al.* <sup>(34)</sup>, que indicou o MNV como um dos patógenos mais prevalentes em camundongos. Em função da relevância da adoção de um programa de monitoramento sanitário, do impacto deste agente nas colônias de animais de laboratório e visto que, não há dados da prevalência de MNV no Brasil, este trabalho teve como objetivo avaliar a distribuição da infecção pelo Norovírus murino em camundongos mantidos em biotérios de Universidades públicas e privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas das diferentes regiões geográficas do Brasil.

#### 4 | METODOLOGIA

**Biotérios:** Foram avaliados vinte e oito biotérios de Universidades públicas e privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas localizados nas regiões Sudeste, Sul, Norte, Nordeste e Centro-Oeste do Brasil. Dentre estes biotérios, dezoito são classificados como biotérios de produção; quatro biotérios de empresas privadas e seis biotérios de experimentação.

**Animais:** Camundongos de diferentes linhagens foram submetidos à avaliação sanitária. Os animais foram eutanasiados segundo as recomendações do CONCEA e necropsiados para a coleta de amostras biológicas. Os procedimentos adotados neste estudo foram analisados e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) do Instituto de Biologia da Unicamp (Protocolo nº: 2372-1).

**Amostras:** Um total de 584 amostras de fezes de camundongos foram

coletadas e uma suspensão fecal a 20% (p/v) foi preparada para a extração do RNA viral e infecção celular. Também foram obtidas 825 amostras de plasma para a realização da técnica de Imunofluorescência indireta (IFI).

**Cultura celular e Isolamento viral:** Células RAW 264.7 foram utilizadas para a o isolamento viral, produção do antígeno e preparo de lâminas para a reação de Imunofluorescência Indireta. Suspensão de fezes a 20% de uma linhagem de camundongo geneticamente modificada foi utilizada como inóculo e doze passagens “cegas” foram realizadas até a observação de efeito citopático (ECP) característico da infecção por MNV após 24 a 48 horas após a inoculação.

**Métodos moleculares:** O RNA viral extraído de amostras de fezes e de sobrenadante de cultura celular foi submetido a reação de RT-PCR pela utilização de *primers* direcionados para a região conservada do gene do capsídeo (VP-1), que detectam os 4 genótipos (MNV-1, 2, 3, 4). O sequenciamento dos amplificadas permitiram realizar o alinhamento e gerar uma árvore filogenética. A caracterização foi realizada pela comparação com as sequências pertencentes a família *Caliciviridae* depositadas no GenBank, pela utilização do BLAST.

## 5 | RESULTADOS

### 5.1 Identificação de MNV nas amostras de fezes pelo RT-PCR

Os resultados obtidos com *primers* que detectam as cepas MNV-1; MNV-2; MNV-3 e MNV-4, demonstraram uma positividade de 29,96% (175/584) nas amostras de fezes de camundongos analisadas nos biotérios das cinco diferentes regiões do Brasil.

Na avaliação dos biotérios, 86% apresentaram resultados positivos para MNV enquanto 14% apresentaram-se negativos (Figura 2).

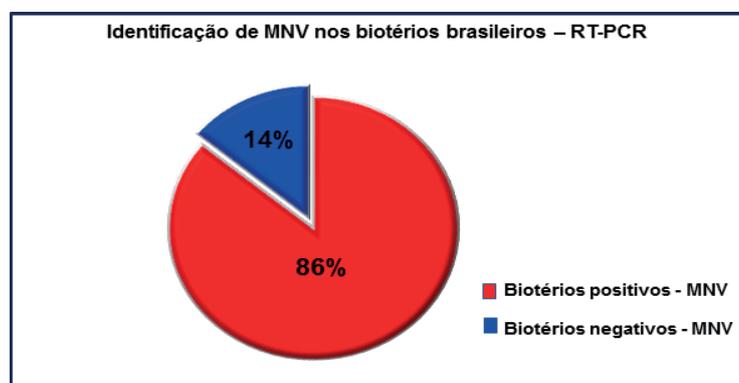


Figura 2: Gráfico de Identificação de MNV nos biotérios brasileiros pela técnica de RT-PCR.

Dentre as regiões analisadas, a região Sudeste apresentou positividade de

37,6% e destacou-se por concentrar 75% das amostras positivas, com a maior quantidade de biotérios de produção de universidades públicas e privadas que mantém colônias de camundongos S.P.F (*Specified pathogen free*), providas de sistema de barreiras sanitárias.

A análise de positividade entre os biotérios de produção e experimentação pertencentes às diferentes instituições demonstrou que a disseminação da infecção pelo MNV tem um perfil muito semelhante. Os biotérios de produção com positividade de 44% e experimentação com 56%.

## 5.2 Isolamento Viral

Isolamento viral foi confirmado pela técnica de RT-PCR nas diferentes passagens celulares, após a inoculação com suspensão fecal de camundongo geneticamente modificado. A observação do efeito citopático, foi evidenciada na 3ª passagem após infecção e caracterizado por células arredondadas e formação de vesículas (Figura 3A e 3B). O isolado obtido identificado como *LCQS1*, foi utilizado na produção de lâminas de IFI, análises de identidade de nucleotídeos e caracterização molecular dos genótipos de MNV.

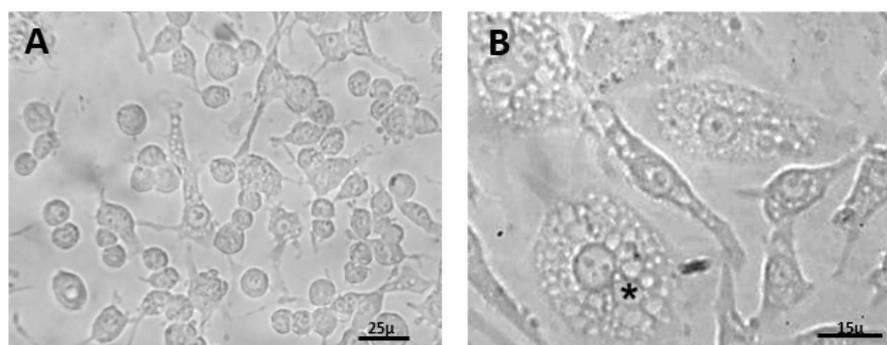


Figura 3: Células RAW 264.7 infectadas com suspensão fecal de camundongo geneticamente modificado, naturalmente infectado com MNV. A: Monocamada de células RAW 264.7 não infectadas (250x); B: Efeito citopático do MNV (\*) após 48 horas de infecção, evidenciado pelas células arredondadas e vesiculadas (aumento de 400x).

## 5.3 Identificação de MNV nas amostras de plasma pela técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI)

Os dados obtidos pela técnica de Imunofluorescência indireta (IFI) para a pesquisa de MNV nas colônias de camundongos dos biotérios de produção e experimentação, das diferentes instituições brasileiras demonstraram que o vírus se mantém circulante nestas colônias. Do total de 825 amostras testadas, 219 (26,54%) apresentaram anticorpos específicos anti-MNV. Dentre as instituições positivas das diferentes regiões do Brasil, universidades Públicas/Privadas representam 20%; Centros de Pesquisa /Produção 29,19%; Centros de Pesquisa/Experimentação

39% e empresas privadas 25%. Apenas oito instituições com padrão sanitário S.P.F, apresentaram-se negativas para anticorpos anti-MNV.

A reação de IFI caracteriza-se por apresentar fluorescência citoplasmática, presença de grânulos e vesículas em células RAW 264.7 (Figura 4).

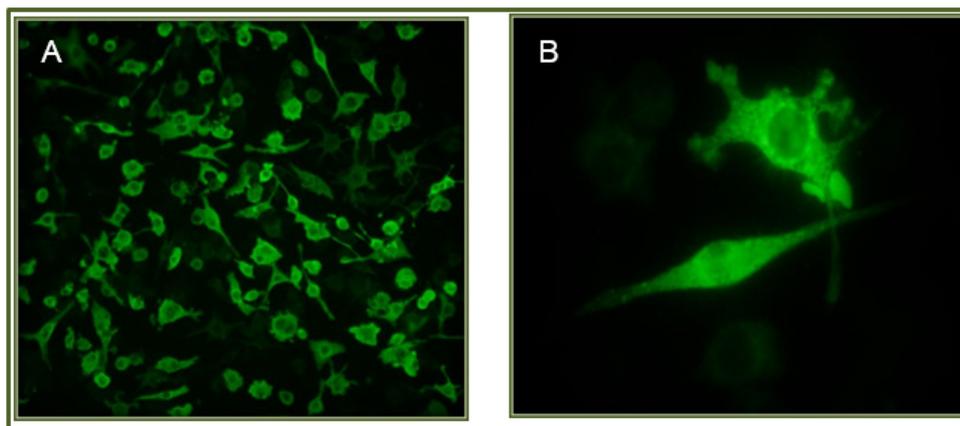


Figura 4: Reação de Imunofluorescência Indireta. A: Células RAW 264.7 infectadas com MNV (isolado LCQS 1), aumento de 200x e B: Células RAW 264.7 infectadas com MNV (isolado LCQS 1), aumento de 400x):

#### 5.4 Caracterização molecular e análise filogenética

Para a análise filogenética, nove amostras de produtos de PCR, foram submetidas ao sequenciamento junto com o isolado *LCQS1* obtido de cultura celular infectada. Uma sequência consenso, foi criada para cada uma destas amostras avaliadas.

As amostras identificadas como *LCQS* representam diferentes biotérios sendo *LCQS1 a LCQS 7*, biotérios de produção de Universidades Pública/Privadas, *LCQS 10*: biotério de um Centro de pesquisa e *LCQS 11*: biotério de empresa privada.

Para fins de comparação com a literatura, 29 sequências protótipo de MNV, de genomas parciais e completos disponíveis no *GenBank*, foram incluídas na análise molecular, representando os diferentes genótipos circulantes mundialmente. Três sequências obtidas de ratos (*Rattus norvegicus*), duas protótipos e uma isolada de colônias de ratos no Brasil, assim como representantes da família *Caliciviridae* também foram incluídas na análise (Figura 5).

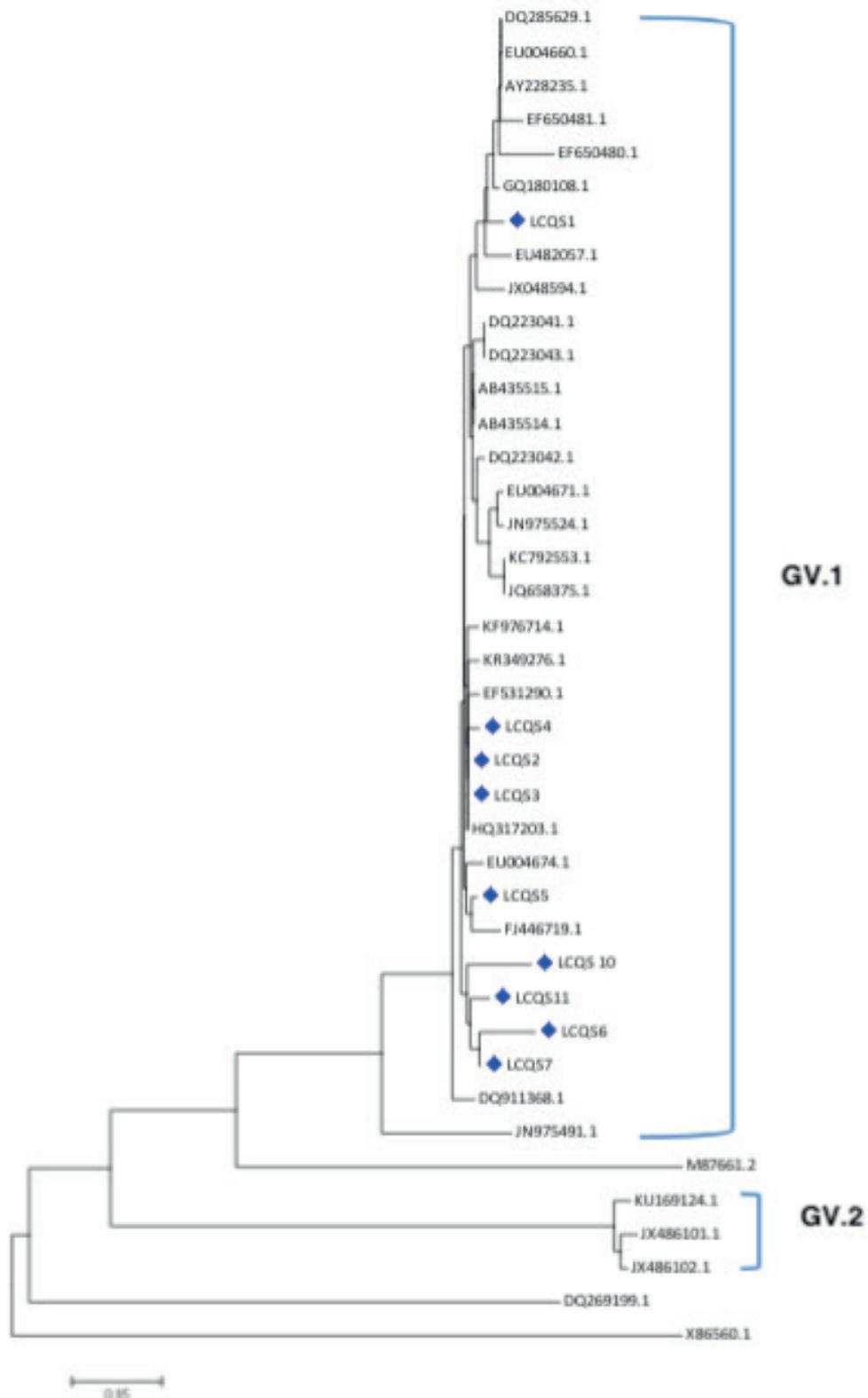


Figura 5: Análise filogenética baseada na sequência de nucleotídeo da VP1 de isolados de MNV de biotérios brasileiros e cepas protótipos do genogrupo V. As sequências M87661.2 e X86560.1 foram utilizadas como grupos externos. As sequências dos isolados estão identificadas com o símbolo ♦. A árvore filogenética foi construída pelo programa MEGA6, utilizando método *Neighbor-Joining*. Valores de *bootstraps* foram definidos em 1000 réplicas. A escala de barra representa unidades por substituição de nucleotídeos.

## 6 | DISCUSSÃO

Este estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de Norovirus murino

em amostras de fezes de camundongos naturalmente infectados provenientes de colônias convencionais e S.P.F. de biotérios de Universidades públicas ou privadas, Centros de pesquisa e empresas privadas das diferentes regiões geográficas do Brasil.

Desde a sua primeira descrição, MNV tem se apresentado como o patógeno mais prevalente nos biotérios que mantém animais de laboratório para uso nas pesquisas biomédicas <sup>(18, 31, 33, 34, 48, 72, 78)</sup>, porém ainda não haviam dados sobre a identificação e circulação do vírus em biotérios brasileiros

Este é o primeiro relato da identificação de Norovírus murino em biotérios de produção e experimentação no Brasil <sup>(82)</sup>. Os resultados obtidos neste estudo, demonstraram positividade de 29,96% nas amostras analisadas por RT-PCR e apontam a ampla disseminação deste vírus nos biotérios brasileiros, sendo que 86% destes, apresentaram-se positivos para MNV por este método. A porcentagem de amostras positivas que apresentaram anticorpos anti-MNV pela técnica de Imunofluorescência Indireta foi de 26,54%. Estes dados juntamente com os obtidos por RT-PCR indicam que o vírus encontra-se circulante nas colônias de camundongos no Brasil, remetendo a preocupação quanto a qualidade dos animais de produção e experimentação que estão sendo utilizados nos estudos biomédicos desenvolvidos no país.

Visto que MNV é um patógeno de amplitude mundial e alta prevalência, destaca-se a necessidade de um programa de monitoramento sanitário efetivo a fim de evitar experimentos não confiáveis e irreprodutíveis. Considerando o perfil das instituições investigadas, as empresas privadas foram as que apresentaram maior taxa de contaminação. Quanto a finalidade dos biotérios, tanto biotérios de produção, com adoção de sistema de barreiras sanitárias, quanto os biotérios de experimentação com barreiras sanitárias menos severas, contribuíram quase que igualmente para demonstrar a ocorrência de MNV.

O perfil de contaminação pode ser atribuído a diversos fatores que contribuíram para esta disseminação viral. Vale ressaltar a troca de diferentes linhagens entre as instituições de ensino e pesquisa, com destaque para as linhagens geneticamente modificadas, que muitas vezes se apresentam mais susceptíveis á agentes infecciosos. Utilização de material biológico contaminado sem prévia certificação e Importação de matrizes de camundongos, trazidas por diversos pesquisadores e instituições como forma de iniciar as colônias de produção e pesquisas. Isto contribui de forma significativa para a introdução de agentes infecciosos e patogênicos encontrados atualmente nos biotérios <sup>(24,58, 71)</sup>.

Dados relatados por biotérios da Europa, América do Norte e Ásia <sup>(29, 33, 34, 46, 66, 72, 77)</sup>, reforçam a disseminação do MNV nas colônias convencionais e SPF de camundongos mantidos em diferentes instituições, demonstrando que este vírus

é capaz de induzir uma infecção persistente, com excreção de partículas virais por longos períodos e assim contribuindo para a transmissão entre os animais <sup>(93)</sup>. Alguns trabalhos correlacionam a persistência viral com a microbiota intestinal na infecção pelo MNV. Dados sugerem que a microbiota intestinal desempenha um papel importante na capacidade do vírus em estabelecer uma infecção persistente, e o tratamento com antibióticos pode modificar a patogênese da infecção viral <sup>(5, 70)</sup>.

Diante da amplitude de disseminação do MNV e da importância em manter animais com qualidade é imprescindível a adoção de estratégias para o controle desta infecção <sup>(45)</sup>. A descontaminação de salas com solução de dióxido de cloro mostrou ser efetiva, com diminuição de até 0,1% de concentração de partículas virais no ambiente <sup>(31)</sup>. MNV não atravessa a barreira placentária, sendo, portanto, erradicado por métodos como: rederivação cesariana, transferência de embriões e transferência ovariana <sup>(2, 11, 79)</sup>.

Os resultados apontam para a urgente necessidade de adequação da infraestrutura física dos biotérios e inclusão deste agente no programa de monitoramento sanitário, assim como recomendado pela *Federation for Laboratory Animal Science Associations* (FELASA) <sup>(59)</sup>.

## REFERÊNCIAS

1. ALHATLANI, B.; VASHIST, S.; GOODFELLOW, I. **Functions of 5' and 3' Ends of Calicivirus Genomes**. *Virus Research*, v.206, p.134-43, 2015.
2. ARTWOHL, J.E.; PURCELL, J.R.; FORTMAN, J.D. **The Use of Cross-foster Rederivation to Eliminate Murine Norovirus, Helicobacter spp., and Murine Hepatitis Virus from a Mouse Colony**. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* v. 47, n.6, p. 19 – 24, 2008.
3. BAILEY, D.; KARAKASILIOTIS, I.; VASHIST, S.; CHUNG, L.M.W.; REES, J.; MCFADDEN, N. et al. **Functional Analysis of RNA Structures Presents at the 3' Extremity of The Murine Norovirus Genome: The Variable Polypyrimidine Tract Plays a Role In Viral Virulence**. *J Virol*, v.84, p.2859-70, 2010.
4. BAILEY, D.; THACKRAY, L.B.; GOODFELLOW, I. **A Single Amino Acid Substitution in the Murine Norovirus Capsid Protein Is Sufficient for Attenuation In Vivo**. *J Virol*, v. 82, n.15, p.7725-8, 2008.
5. BALDRIDGE, M.; NICE, T.; MCCUNE, B.T.; YOKOYAMA, C.C.; KAMBAL, A.; WHEADON, M.; et al. **Commensal microbes and interferon- determine persistence of enteric murine norovirus infection**. *Science*, v. 347, n.6219, p. 266-69, 2015.
6. BARTSCH, S.M.; LOPMAN, B.A.; OZAWA, S.; HALL, A.J.; LEE, B.Y. **Global economic burden of norovirus gastroenteritis**. *PLoS ONE*, V. 11, e0151219, 2016.
7. BELLLOT, G.; SOSONOTEV, S.V.; CHANG, K.O.; BABU, V.; UCHE, U.; ARNOLD, J.J.; et al. **Norovirus Proteinase Polymerase and Polymerase are Both Active Forms of RNA Dependent RNA Polymerase**. *J Virol*, v.79, n.4, p.2393-403, 2005.
8. BERNSTEIN, D.I., ATMAR, R, L., LYON, G. M., TREANOR, J.J.; et al. **Norovirus vaccine against**

**experimental human GII.4 virus illness: A challenge study in healthy adults.** *J. Infect. Dis.*, v. 211, p. 870-878, 2015.

9. BERTOLOTTI-CIARLET, A.; CRAWFORD, S.E.; HUTSON, A.M.; ESTES, M.K. **The 3' End of Norwalk Virus mRNA Contains Determinants that Regulate the Expression and Stability of the Viral Capsid Protein VP1: A Novel Function for the VP2 Protein.** *J Virol*, v.77, n.21, p. 11603-15, 2003.

10. BHAR, S.; JONES, M.K. **In Vitro Replication of Human Norovirus.** *Viruses*. v.11, n.6, p.547, 2019.

11. BUXBAUM, L.U.; DERITIS, P.C.; CHU, N.; CONTI, P.A. **Eliminating murine norovirus by cross-fostering.** *J Am Assoc Lab Anim Sci*, v.50, n.4, p. 495-499, 2011.

12. CANNON, J.L.; BARCLAY, L.; COLLINS, N.R.; WIKSWO, M.E.; CASTRO, C.J.; MAGAÑA, L.C.; GREGORIUS, N.; MARINE, R.L.; CHHABRA, P.; VINJÉ, J. **Genetic and epidemiologic trends of norovirus outbreaks in the United States from 2013 to 2016 demonstrated emergence of novel GII.4 recombinant viruses.** *J. Clin. Microbiol.*, v.55, p. 2208-2221, 2017.

13. COSTANTINI, V.; MORANTZ, E.K.; BROWNE, H.; ETTAYEBI, K.; ZENG, X.L.; ATMAR, R.L.; ESTES, M.K.; VINJÉ, J. **Human Norovirus Replication In Human Intestinal Enteroids As Model To Evaluate Virus Inactivation.** *Emerg Infect Dis*. v. 24, n.8, p.1453-1464, 2018.

14. COTTON, M.; KOOPMANS, M. **Next generation sequencing and norovirus.** *Future Virology*, v.11, n.11, p. 719-22, 2016.

15. CROMEANS, T.; PARK, G.W.; COSTANTINI, V.; LEE, D.; WANG, Q.; FARKAS, T.; LEE, A.; VINJÉ, J. **Comprehensive Comparison Of Cultivable Norovirus Surrogates In Response To Different Inactivation And Disinfection Treatments.** *Appl Environ Microbiol.*, v.80, p.5743–51, 2014.

16. DAUGHENBAUGH, K.F.; WOBUS, C.E.; HARDY, M.E. **VPg of Murine Norovirus Binds Translation Initiation Factors in Infected Cells.** *Virology Journal*, v.3, p.33-39, 2006.

17. DONALDSON, E.F.; LINDESMITH, L.C.; LOBUE, A.D.; BARIC, R.S. **Viral Shape-Shifting: Norovirus Evasion of the Human Immune System.** *Nature Reviews. Microbiology*, v.8, p. 231-41, 2010.

18. DUIZER, E.; SCHWAB, K.J.; NEILL, F.H.; ATMAR, R.L.; KOOPMANS, M.P.; ESTES, M.K. **Laboratory Efforts to Cultivate Noroviruses.** *J Gen Virol*, v.85, p.79-87, 2004.

19. ESTES, M.K.; ETTAYEBI, K.; TENGE, V.R.; et al. **Human Norovirus Cultivation in Nontransformed Stem Cell-Derived Human Intestinal Enteroid Cultures: Success and Challenges.** *Viruses*, v.11, n.7, E638, 2019.

20. ETTAYEB, K.; HARDY, M.E. **Norwalk Virus Nonstructural Protein P48 Forms a Complex with The Snare Regulator VAP-A and Prevents Cell Surface Expression of Vesicular Stomatitis Virus G Protein.** *J Virol*, v.77, p.11790–97, 2003.

21. FARKAS, T.; FEY, B.; KELLER, G.; MARTELLA, V.; EGYED, L. **Molecular detection of murine noroviruses in laboratory and wild mice.** *Vet Microbiol.*, v.160, p. 463-467, 2012.

22. FERNANDEZ-VEGA, V.; SOSNOVTSEV, S.V.; BELLIO, G.; KING, A.D.; MITRA, T.; GORBALENYA, A.; GREEN, K.Y. **Norwalk Virus N-Terminal Nonstructural Protein is Associated with Disassembly of the Golgi Complex in Transfected Cells.** *J Virol*, v.78, p. 4827-37, 2004.

23. GERONDOPOULOS, A.; JACKSON, T.; MONAGHAN, P.; DOYLE, N.; ROBERTS, L.O. **Murine Norovirus-1 Entry is Mediated Through a Non-Clathrin, Non-Caveolae, Dynamin-, And**

**Cholesterol - Dependent Pathway.** J Gen Virol, v.91, p.1428-38, 2010.

24. GILIOLI R. **Avaliação do perfil sanitário de colônias de camundongos e de ratos em biotérios brasileiros: ocorrência de bactérias, parasitas e vírus murinos.** [Tese]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia; 2003.

25. GOODFELLOW, I.; CHAUDHRY, Y.; GIOLDASI, I.; GERONDOPOULOS, A.; NATONI, A.; LABRIE, L.; LALIBERTE, J.F.; ROBERTS, L. **Calicivirus Translation Initiation Requires an Interaction Between VPg and eIF4e.** EMBO Reports, v.6, n.10, p. 968 – 972, 2005.

26. GOTO, K.; HAYASHIMOTO, N.; YASUDA, M.; ISHIDA, T.; KAMEDA, S.; TAKAKURA, A.; ITOH, T. **Molecular detection of murine norovirus from experimentally and spontaneously infected mice.** Central Institute for Experimental Animals, v.58, n.2, p. 135-40, 2009.

27. GREEN, K. Y. **Noroviruses and B Cells.** Clinical Infectious Diseases, v.62, n.9, p. 1139-1140, 2016.

28. GREEN, K.Y.; (Ed.) **Caliciviridae: The Noroviruses.** In: KNIPE, D.M.; HOWLEY, P.M. (Eds.), Fields Virology. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins, p.582-608, 2013.

29. HANAKI, K.I.; IKE, F.; KAJITA, A.; YASUNO, W.; YANAGIBA, M.; GOTO, M.; SAKAI, K.; AMI, Y.; KYUWA, S. **A broadly reactive one-step SYBR green I real-time RT-PCR assay for rapid detection of murine norovirus.** PLoS One, v.9, n.5, e98108, 2014.

30. HARDY, M.E. **Norovirus Protein Structure and Function.** FEMS Microbiology Letters, v.253, n.1, p. 1-8, 2005.

31. HENDERSON, K. **Murine Norovirus: A Recently Discovered and Highly Prevalent Viral Agent of Mice.** Laboratory Animal, v. 37, n.7, p. 314 – 20, 2008.

32. HSU, C.C.; RILEY, L.K.; LIVINGTON, R.S. **Molecular Characterization of Three Novel Murine Noroviruses.** Virus Genes, v. 34, p. 147–55, 2007.

33. HSU, C.C.; RILEY, L.K.; WILLS, H.M.; LIVINGTON, R.S. **Persistent infection with and serologic cross-reactivity of three novel murine noroviruses.** Comp Med, v.56, p.247–251, 2006.

34. HSU, C.C.; WOBUS, C.E.; STEFFEN, E.K.; RILEY, L.K.; LIVINGSTON, R.S. **Development of a microsphere-based serologic multiplexed fluorescent immunoassay and a reverse transcriptase PCR assay to detect murine norovirus 1 infection in mice.** Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, v.12, p.1145–1151, 2005.

35. HYDE, J.L.; MACKENZIE, J.M. **Pathogenesis and Replication of Norovirus: Following the Mouse Tail?** Under the Microscope, Microbiology, 2012.

36. HYDE, J.L.; SOSNOTEV, S.V.; GREEN, K.Y.; WOBUS, C.E.; VIRGIN, H.W.; MACKENZIE, J.M. **Mouse Norovirus Replication Is Associated with Virus-Induced Vesicle Cluster Originating from Membranes Derived From The Secretory Pathway.** J Virol, v.83, n.19, p. 9709 -19, 2009.

37. JONES, M.K.; GRAU, K.R.; CONSTANTINI, V.; KOLAWOLE, A.O.; DE GRAAF, M.; FREIDEN, P. et al. **Human norovirus culture in B cells.** Nat Protoc. v.10, p. 1939-1947, 2015.

38. KAPIKIAN, A.Z.; WYATT, R.G.; DOLIN, R.; THORNHILL, T.S.; KALICA, A.R.; CHANOCK, R.M. **Visualization by Immune Electron Microscopy of a 27-nm Particle Associated with Acute Infectious Nonbacterial Gastroenteritis.** J Virol, v.10, n.5, p.1075-81,1972.

39. KARANDIKAR, U.; TENGE, V.R.; et al. **Replication of human noroviruses in stem cell-derived**

**human enteroids.** *Science*, v. 353, n.6306, p. 1387–1393, 2016.

40. KARST, M.K. **Pathogenesis of Noroviruses, emerging RNA viruses.** *Viruses*, v. 2, p. 748–781, 2010.

41. KARST, M.K.; ZHU, S.; GOODFELLOW, I. **The molecular pathology of noroviruses.** *J Pathol*, v. 235, p. 206-216, 2015.

42. KARST, S.M.; WOBUS, C.E. **A Working Model of How Noroviruses Infect the Intestine.** *PLoS Pathogen*, v.11, n.2, E1004626, 2015.

43. KARST, S.M.; WOBUS, C.E.; GOODFELLOW, I.; GREEN, K.Y.; VIRGIN, H.W. **Advances in norovirus biology.** *Cell Host & Microbe*, v.15, p. 668-80, 2014.

44. KARST, S.M.; WOBUS, C.E.; LAY, M.; DAVIDSON, J.; VIRGIN, H.W.T. **STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus.** *Science* v. 299, p. 1575–78, 2003.

45. KASTENMAYER, R.J.; Perdue, K.A.; Elkins, W.R. **Eradication of murine norovirus from a mouse barrier facility.** *J Am Assoc Lab Anim Sci*, v.47, p.26-30, 2008.

46. KERMELSON, J.A.; POMERLEAU, D.P.; GRIFFEY, S.; KAROLAK, M.J.; FAHEY, J.R. **Kinetics of transmission, infectivity, and genome stability of two novel mouse norovirus isolates in breeding mice.** *Comp Med*, v.59, p. 27-36, 2009.

47. KIM, J.R.; SEOK, S.H.; KIM, D.J.; BAEK, M.W.; NA, Y.R.; HAN, J.H.; KIM, T.H.; PARK, J.H.; TURNER, P.V.; CHUNG, D.H.; KANG, B.C. **Prevalence of murine norovirus infection in Korean laboratory animal facilities.** *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 73, n.5, p.687- 691, 2011.

48. KIM, J.R.; SEOK, S.H.; KIM, D.J.; BAEK, M.W.; NA, Y.R.; HAN, J.H.; et al. **Prevalence of murine norovirus infection in Korean laboratory animal facilities.** *J Vet Med Sci.*, v.73, p.687-691, 2011.

49. KITAGAWA, Y.; TOHYA, Y.; IKE, F.; KAJITA, A.; PARK, S.J.; ISHII, Y.; KYUMA, S.; YOSHIKAWA, Y. **Indirect ELISA and indirect immunofluorescent antibody assay for detecting the antibody against murine norovirus S7 mice.** *Experimental Animals*, v.59, n.1, p. 47 – 55, 2010.

50. KITAJIMA, M.; OKA, T.; TOHYA, Y.; KATAYAMA, H.; TAKEDA, N.; KATAYAMA, K. **Development of a broadly reactive nested reverse transcription-PCR assay to detect murine noroviruses, and investigation of the prevalence of murine noroviruses in laboratory mice in Japan.** *Microbiology Immunology*, v.53, p.531-534, 2009.

51. KITWADEE, R.; PORNTIP, C.P.; PORNPHAN, D.; VINJÉ, J.; LEERA, K. **Development of one-step TaqMan quantitative RT-PCR assay for detection of Norovirus genogroups I and II in oyster.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, v. 49, n. 6, 2018.

52. KITWADEE, R.; PORNTIP, C.P.; PORNPHAN, D.; VINJÉ, J.; LEERA, K. **Evaluation of a real-time RT-PCR assays for detection and quantification of norovirus genogroups I and II.** *Virologica Sinica*, v.32, n.2, p. 139 – 146, 2017.

53. Kroneman, A.; VEGA, E.; VENNEMA, H.; VINJÉ, J.; WHITE, P.; HANSMAN, G.; GREEN, K. Y.; et al. **Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping.** *Arch Virol* , v. 58, p. 2059 – 68, 2013.

54. KUYUMCU-MARTINEZ, M.; BELLLOT, G.; SOSNOVTSEV, S.V.; CHANG, K.O.; GREEN, K.Y.; LLOYD, R.E. **Calicivirus 3C-Like Proteinase Inhibits Cellular Translation by Cleavage of Poly(A)-Binding Protein.** *J Virol*, v.78, p.8172-82, 2004.

55. LEEN, E.N.; KWOK, K.Y.R.; BIRTLEY, J.R.; SIMPSON, P.J.; SUBBA-REDDY, C.; CHAUDHRY, Y. et al. **Structures of the Compact Helical Core Domains of Feline Calicivirus and Murine Norovirus VPg Proteins.** J Virol, v.87, n.10, p.5318-30, 2013.
56. LENCIONI, K.C.; SEAMONS, A.; TREUTING, P.M.; MAGGIO-PRICE, L.; BRABB, T. **Murine norovirus an intercurrent variable in a mouse model of bacteria-induced inflammatory bowel disease.** Comp Med, v.58, p.522-533, 2008.
57. LINDESMITH, L.C.; McDANIEL, J.R.; CHANGELA, A.; VERARDI, R.; KERR, S. A.; et al. **Sera antibody repertoire analyses reveal mechanisms of broad and pandemic strain neutralizing responses after human norovirus vaccination.** Immunity, v. 50, p. 1530–1541, 2019.
58. MAHABIR, E.; BAUER, B.; SCHMIDT, J. **Rodent and germoplasm trafficking: risks of microbial contamination in a high-tech biomedical world.** ILAR Journal, v. 49, p. 347-55, 2008.
59. MAHLER, M.; BERARD, M.; FEINSTEIN, R.; GALLAGHER, A.; ILLGEN-WILCKE, B.; PRITCHETT-CORNING, K.; RASPA, M. **FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units.** Laboratory Animals, v.48, n.3, p. 178 – 192, 2014.
60. MANJUNATH, S.; KULKARNI, P.G.; NAGAVELU, K.; SAMUEL, R.J.; SRINIVASAN, S.; RAMASAMY, N.; et al. **Sero-prevalence of rodent pathogens in India.** PLoS One, v.10, e0131706, 2015
61. MARRHEWS, J.E.; DICKEY, B.W.; MILLER, R.D. *et al.* **The epidemiology of published norovirus outbreaks: a review of risk factors associated with attack rate and genogroup.** Epidemiol Infect, v.140, n.7, p. 1161-72, 2012.
62. MARTELLA V, CAMPOLO M, LORUSSO E, CAVICCHIO P. et al. **Norovirus in captive lion cub (*Panthera leo*).** Emerg Infect Dis, v.13, p.1071-73, 2007.
63. MCFADDEN, N.; BAILEY, D.; CARRARA, G.; BENSON, A.; CHAUDHRY, Y.; SHORTLAND, A. et al. **Norovirus Regulation of the Innate Immune Response and Apoptosis Occurs Via The Product of the Alternative Open Reading Frame 4.** PLoS Pathogen, v.7, E1002413, 2011.
64. MEYERS, G. **Translation of the Minor Capsid Protein of a Calicivirus is Initiated by A Novel Termination-Dependent Reinitiation Mechanism.** Journal of Biological Chemistry, v. 278, n.36, p.34051 – 60, 2003.
65. MOREIRA, J.C.O.; RODRIGUES, D.M.; GILIOLI, R.; COSTA, F.F.; ALBUQUERQUE, D.M. **A semi-nested RT-PCR assay for detection of norovirus in rat fecal samples.** Exp Anim, v. 68, n.2, p. 169 – 176, 2019.
66. MULLER, B.; KLEMM, U.; MARQUES, A.M.; SCHREIER, E. **Genetic diversity and recombination of murine noroviruses in immunocompromised mice.** Arch Virol, v.152, p. 1709 – 19, 2007.
67. MUMPHREY, S.M.; CHANGOTRA, H.; MOORE, T.N.; HEIMNN-NICHOLS, E.R.; WOBUS, C.E.; REILLY, M.J.; MOGHADAMFALAH, M.; SHUKLA, D.; KARST, S.M. **Murine norovirus 1 infection is associated with histopathological changes in immunocompetent hosts, but clinical disease is prevented by STAT1-dependent interferon responses.** J Virol, v.81, p.3251–63, 2007.
68. MUNNIK, B. B.O.; Hoek-van der, L. **Viruses causing gastroenteritis: the know, the new and those beyond.** Viruses, v.8, n.42, 2016.
69. NAGY, P.D.; POGANY, J. **The Dependence of Viral RNA Replication on Co-Opted Host Factors.** Nat Rev Microbiol, v,10, p.137-49, 2011.

70. NELSON, A.M.; ELFTMAN, M.D.; PINTO, A.K.; BALDRIDGE, M.; HOOPER, P.; et al. **Murine norovirus infection does not cause major disruptions in the murine intestinal microbiota.** *Microbiome*, v.1, p.7, 2013.
71. NICKLAS, W.; KRAFT, V.; MEYER, B. **Contamination of transplantable tumors, cell lines, and monoclonal antibodies with rodent viruses.** *Lab. Anim. Sci.*, v.43, n.4, p. 296-300, 1993.
72. OHSUGI, T.; MATSURA, K.; KAWABE, S.; NAKAMURA, N.; KUMAR, J.M.; WAKAMIYA, M.; MORIKAWA, S.; URANO, T. **Natural infection of murine norovirus in conventional and specific pathogen-free laboratory mice.** *Frontiers in Microbiology*, v. 41, n. 12, p. 1 – 6, 2013.
73. OLIVER, S.L.; DASTJERDI, A.M.; WONG, S.; EL-ATTAR, L.; GALLIMORE, C.; BROWN, D.W.; GREEN, J.; BRIDGER, J.C. **Molecular characterization of bovine enteric caliciviruses: a distinct third genogroup of noroviruses (Norwalk-like viruses) unlikely to be of risk to humans.** *J Virol*, v.77, p. 2789-98, 2003.
74. ORCHARD, R.C.; WILEN, C.B.; DOENCH, J.G.; BALDRIDGE, M.T.; MCCUNE, B.T.; LEE, Y.C.J. et al. **Discovery of a proteinaceous cellular receptor for a norovirus.** *Science*, v. 353, n.6302, p. 933-36, 2016.
75. PAIK, J.; FIERCE, Y.; DRIVDAHL, R.; TREUTING, P.M.; SEAMONS, A.; BRABB, T.; MAGGIO-PRICE, L. **Effects of murine norovirus infection on a mouse model of diet-induced obesity and insulin resistance.** *Comp Med*, v.60, n.3, p. 189-195, 2010.
76. PANG, X.; LEE, B.E. **Laboratory Diagnosis of Noroviruses: Present and Future.** *Clin Lab Med*, v.35, p.345–362, 2015.
77. PERDUE, K.A.; GREEN, K.Y.; COPELAND, M.; BARRON, E.; MANDEL, M.; FAUCETTE, L.J.; WILLIAMS, E.M.; SOSNOVTSEV, S.V.; ELKINS, W.R.; WARD, J.M. **Naturally occurring murine norovirus infection in a large research institution.** *Journal of American Association of Laboratory Animal Science*, v.46, p.39-45, 2007.
78. PRITCHETT-CORNING, K.R.; COSENTINO, J.; CLIFFORD, C.B. **Contemporary prevalence of infectious agents in laboratory mice and rats.** *Laboratory Animals*, v.43, p. 165-73, 2009.
79. RASPA, M.; MAHABIR, E.; FRAY, M.; VOLLAND, R.; SCAVIZZI, F. **Lack of transmission of murine norovirus to mice via in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, and ovary transplantation.** *Theriogenology*, v. 86. n. 2, p. 579-88, 2016.
80. RAVINDRAN, R.; KHAN, I.H.; KRISHNAN, V.V.; ZIMAN, M.; KENDALL, L.V.; FRASIER, J.M.; et al. **Validation of multiplex microbead immunoassay for simultaneous serodetection of multiple infectious agents in laboratory mouse.** *J Immunol Meth*, v.363, n.1, p. 51-59, 2010.
81. ROBILOTTI, E.; DERESINSKI, S.; PINSKY, B.A. **NOROVIRUS.** *Clinical Microbiology Reviews* v. 28, n.1, p. 134-64, 2015.
82. RODRIGUES, D.M.; OLIVEIRA-MOREIRA, J.C.; LANCELOTTI, M.; GILIOLI, R.; CORAT, M.A.F. **Murine norovirus infection in Brazilian animal facilities.** *Exp Anim*, v.66, n.2, p. 115-124, 2017.
83. ROYAL, E.; LOCKER, N. **Translational Control During Calicivirus Infection.** *Viruses* v.8, n.4, p.104; DOI:10.3390, 2016.
84. SARVESTANI, S.T.; COTTON, B.; FRITZLAR, S.; O'DONNELL, T.B.; MACKENZIE, J. **Norovirus Infection: Replication, Manipulation of Host, and Interaction with the Host Immune Response.** *Journal of Interferon & Cytokine Research*, v.36, n.4, p.215 -25, 2016.

85. SCIPIONI, A.; MAUROY, A.; VINJÉ, J.; THIRY, E. **Review: Animal Noroviruses.** The Veterinary Journal, v. 178, p. 32 – 45, 2008.
86. SETH, R.B.; SUN, L.; EA, C.K.; CHEN, Z.J. Identification and **Characterization of MAVS, a Mitochondrial Antiviral Signaling Protein that Activates NF- $\kappa$ B and IRF3.** Cell, v.122, n.5, p. 669-82, 2005.
87. SIMMONDS, P.; KARAKASILLOTIS, I.; BAILEY, D.; CHAUDHRY, Y.; EVANS, D.J.; GOODFELLOW, I. **Bioinformatic and Functional Analysis of RNA Secondary Structure Elements among Different Genera of Human and Animal Caliciviruses.** Nucleic Acid Research, v. 36, n.8, p. 2530-46, 2008.
88. SMITH, D.B.; MCFADDEN, N.; BLUNDELL, R.J.; MEREDITH, A.; SIMMONDS, P. **Diversity of murine norovirus in wild-rodent populations: species-specific associations suggest an ancient divergence.** J Gen Virol., v.93, p. 259-266, 2012.
89. **SOSNOTEV, S.V.; BELLIOU, G.; CHANG, K.O.; PRIKHODKO, V.G.; THACKRAY, L.B.; WOBUS, C.E.; et al.** Cleavage Map and Proteolytic Processing of the Murine Norovirus Nonstructural Polyprotein In Infected Cells. **J Virol, p.7816 – 7831, 2006.**
90. SUGIEDA, M.; NAKAJIMA, S. **Viruses detected in the caecum contents of healthy pigs representing a new genetic cluster in genogroup II of the genus “Norwalk-like viruses”.** Virus Research v. 87, p. 165 – 72, 2002.
91. TAN, M.; HUANG, P.; MELLER, J.; ZHONG, W.; FARKAS, T.; JIANG, X. **Mutations Within the P2 Domain of Norovirus Capsid Affect Binding of Human Histo-Blood Group Antigens: Evidence for a Binding Pocket.** J Virol, v.77, p.12562–71, 2003.
92. TAUBE, S.; KOLAWOLE, A.O.; HÖHNE, M.; WILKINSON, J.E.; HANDLEY, S.A.; PERRY, J.W.; et al. **A Mouse Model for Human Norovirus.** mBio, v.4, n.4, E00450-13, 2013.
93. THACKRAY, L.B.; WOBUS, C.E.; CHACHU, K.A.; LIU, B.; ALEGRE, E.R.; HENDERSON, K.S.; KELLEY, S.T.; VIRGIN, H.W.T. **Murine noroviruses comprising a single genogroup exhibit biological diversity despite limited sequence divergence.** J Virol, v.81, p.10460–73, 2007.
94. THORNE, L.G.; GOODFELLOW, I. **Norovirus Gene Expression and Replication.** J Gen Virol, v.95, p. 278-91, 2014.
95. TSE, H.; CHAN, W.M.; LAM, C.S.; LU, S.K.; WOO, P.C. v Yuen KY. **Complete genome sequences of novel rat noroviruses in Hong Kong.** J Virol. v, 86, p. 12435-12436. 2012.
96. TSUNESUMI N, SATO G, IWASA M, KABEYA H, MARUYAMA S, TOHYA Y. **Novel murine norovirus-like genes in wild rodents in Japan.** J Vet Med Sci. V. 74, p. 1221-1224, 2012.
97. VINJÉ, J. **Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus.** J Clin Microbiol, v. 53, n. 2, p. 373-381, 2015.
98. WALKER, P.J.; SIDDLE, S.G.; LEFKOWIT, E.J. et al. **Changes to virus taxonomy and the International Code of Virus Classification and Nomenclature ratified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (2019).** Archives of Virology v.164, p. 2417–2429, 2019.
99. WANG, Q.W.; COSTANTINI, V.; SAIF, F.L.J. **Porcine enteric caliciviruses: genetic and antigenic relatedness to human caliciviruses, diagnosis and epidemiology.** Vaccine, v. 25, p. 5453-66, 2007.
100. WOBUS, C.E.; KARST, S.M.; THACKRAY, L.B.; CHANG, K.O.; SOSNOVTSEV, S.V.; BELLIOU, G.; KRUG, A.; MACKENZIE, J.M.; GREEN, K.Y.; VIRGIN, H.W. **Replication of Norovirus in Cell Culture Reveals a Tropism for Dendritic Cells and Macrophages.** PLoS BIOLOGY, v.2, E4322004,

2004.

101. WOBUS, C.E.; THACKRAY, L.B.; VIRGIN, H.W. **Murine Norovirus: A Model System to Study Norovirus Biology and Pathogenesis.** J Virol, v.80, n.11, p. 5104-5112, 2006.

102. WOLF, S.; WILLIAMSON, W.M.; HEWITT, J.; RIVERA-ABAN, M.; LIN, S.; BALL, A.; SCHOLLES, P.; GREENING, G.E. **Sensitive multiplex real-time reverse transcription-PCR assay for the detection of human and animal noroviruses in clinical and environmental samples.** Applied Environmental Microbiology, v.73, n.17, p. 5464 – 70, 2007.

103. XI, J.N.; GRAHAM, D.Y.; WANG, K.N.; ESTES, M.K. **Norwalk virus genome cloning and characterization.** Science, v.250, p.1580 – 83, 1990.

104. YUNUS, M.A.; LIN, X.; BAILEY, D.; KARAKASILLOTIS, I.; CHAUDHRY, Y.; VASHIST, S.; ZHANG, G.; et al. **The Murine Norovirus Core Subgenomic RNA Promoter Consists of a Stable Stem-Loop that Can Direct Accurate Initiation of RNA Synthesis.** J Virol, v. 89, n.2, p. 1218-29, 2015.

105. ZAHORSKY, J. **Hyperemesis hiemis or the winter vomiting disease.** Archives of pediatrics, v.46, p.391-95, 1929.

106. ZHU, S.; REGEV, D.; WATANABE, M.; HICKMAN, D.; MOUSSATCHE, N.; JESUS, D.M. et al. **Identification of Immune and Viral Correlates of Norovirus Protective Immunity Through Comparative Study of Intra-Cluster Norovirus Strain.** PLoS Path, v.9, n.9, E1003592, 2013.

107. ZOU, W.Y.; BLUTT, S.E.; CRAWFORD, S.E.; et al. **Human intestinal enteroids: new models to study gastrointestinal virus infections.** Methods Mol Biol. v.1576, p. 229 - 247, 2019.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**LAIS DAIENE COSMOSKI** - Professora adjunta do Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais (CESCAGE), nos cursos de Tecnologia em Radiologia e Bacharelado em Farmácia. Analista clínica no Laboratório do Hospital Geral da Unimed (HGU). Bacharel em Biomedicina pelas Universidades Integradas do Brasil (UniBrasil). Especialista em Circulação Extracorpórea pelo Centro Brasileiro de Ensinos Médicos (Cebamed) Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas da UEPG. Possui experiência com o desenvolvimento de pesquisas na área de avaliação clínico/laboratorial de processos fisiopatológicos.

## ÍNDICE REMISSIVO

### A

Abortivos 12

Amido Resistente 140, 141, 144

Ansiedade 54, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 250

Assimetria Cerebral 22

### B

Banana 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147

Banco de Dados Moleculares 22

Biomarcadores 148, 155, 157, 158

Biotérios Brasileiros 111, 112, 125, 127, 130, 131, 134

### C

Camundongo Nude 39

Capacitação 33, 34, 35, 36, 212, 215, 216, 220, 261

Consumo Alimentar na Adolescência 197

Cuidados Paliativos 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221

Cytokines 68, 69, 71, 77, 78, 81

### D

Dengue 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160

Dengue Grave 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158

Denv 148, 149, 150, 151, 152, 155, 156, 157, 158

Depressão 54, 65, 66, 224, 225, 226, 227, 228, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 250, 257, 259

Detecção Precoce 148, 158

Distúrbios Osteomusculares Relacionados ao Trabalho (DORT) 33, 34

### E

Educação Médica 211, 256, 259, 260, 261

Empatia 216, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 263

Envelhecimento 54, 64, 213, 266, 267, 268, 272

Equipamento Cirúrgico Portátil de Comunicação 161, 162, 166

Espiritualidade 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 219, 220, 221, 256, 258, 259, 260, 261, 263, 264

Estágio Clínico 210, 211, 215

Estimulação Neuronal 53, 55

Estudantes de Medicina 210, 212, 213, 215, 216, 219, 221, 222, 235, 256, 257, 258, 259

Experimental 8, 12, 18, 40, 41, 50, 63, 68, 70, 71, 72, 73, 81, 88, 89, 110, 112, 133, 134, 135, 136, 159, 166

## F

Fator de Crescimento Neuronal 53, 55, 59

Fitoterapia 12, 14, 19, 58

## G

Gestação na Adolescência 197, 198

Ginástica Laboral 33, 34, 35, 37

Gravidez 12, 14, 19, 20, 197, 199, 208, 273, 274, 275, 276

## L

Laparoscopy 68, 78, 80, 81, 82

Lateralidade 22, 107

Lung Injury 68, 78

## M

Metástase Hepática 39

Mini-Mental 266, 267, 272

Modelo de Primata Neuropsiquiátrico 22

Modelo Pré-Clínico 39

Monitoramento Sanitário 111, 112, 125, 126, 131, 132

## N

Norovirus murino 130

Nutrição 140, 145, 150, 197, 198, 204

Nutrição da Adolescente Grávida 197

## O

Oxidative Stress 66, 68, 69, 71, 77, 78, 79, 80, 81, 82

## P

Plantas Medicinais 12, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 59, 67

Pneumoperitoneum 68, 69, 70, 72, 73, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 81, 82

## R

Rede Social 266, 268, 269, 270, 271, 272

Relação Médico-Paciente 256, 259, 263

Religiosidade 210, 212, 213, 214, 215, 216, 218, 219, 220, 221, 222, 224, 225, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 256, 258, 259, 260

Robô R1T1 161, 162, 165, 166, 167, 168, 169, 171, 173

Rosmarinus Officinalis 15, 52, 53, 55, 58, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67

## S

Saúde Animal 112

Saúde do Adolescente 274

Saúde Escolar 274

Sexualidade 273, 274, 275, 276

## T

Transcriptômica 22

Transplante de Órgãos 162, 163, 166, 171, 173

## U

Ultrassom 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 39, 181

## X

Xenoenxerto Ortotópico 39

