INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DE *ALPHAVIRUS* (CHIKV) EM MORCEGOS NO MARANHÃO

Antonio Carlos Viana de Almeida[1]

Marxo Santana Guimarães Morais[2]

Amanda Karolyne Costa Castelo Branco[3]

Maria Claudene Barros[4]

Maria Cleoneide da Silva[5]

INTRODUÇÃO

Alphavirus é um gênero pertencente à família Togaviridae e compreende 32 espécies reconhecidas, sendo a maioria associada a arbovírus (ICTV, 2026). O vírus Chikungunya (CHIKV) é considerado, entre os alphavírus de importância médica, um dos arbovírus de maior impacto epidemiológico no Brasil. A transmissão autóctone do CHIKV foi detectada inicialmente em setembro de 2014, na cidade de Oiapoque, estado do Amapá (Honório et al., 2015). Desde então, o vírus se disseminou por diferentes regiões do país, com ampla expansão territorial e ocorrência de surtos sucessivos.

Desde 2016, o Brasil tem sido apontado como o principal epicentro das epidemias de chikungunya nas Américas, com mais de 1,6 milhão de casos registrados até 2023 (Souza et al., 2024; Fiocruz, 2024). Em 2024, a incidência de chikungunya no Brasil ultrapassou o limite máximo esperado nas primeiras semanas epidemiológicas, evidenciando a relevância da doença para a saúde pública nacional (Brasil, 2024). Em 2025, até a semana epidemiológica 34, foram registrados 118.595 casos prováveis e 107 óbitos confirmados por chikungunya no país (Brasil, 2025).

O CHIKV é classificado em três genótipos principais: Oeste Africano (West African - WA), Leste/Centro/Sul Africano (East/Central/South African - ECSA) e Asiático. A linhagem do Oceano Índico (Indian Ocean Lineage - IOL) é frequentemente descrita como uma linhagem derivada do genótipo ECSA, associada a importantes epidemias em ilhas do Oceano Índico, no subcontinente indiano e em outras regiões (Newase et al., 2020; Phadungsombat et al., 2020).

No Brasil, até o momento, foram detectados principalmente os genótipos Asiático e ECSA do CHIKV. Em 2014, a transmissão local do genótipo Asiático foi identificada em Oiapoque, no estado do Amapá, estando relacionada à linhagem circulante no Caribe e em outras regiões das Américas. No mesmo período, o genótipo ECSA foi detectado em Feira de Santana, no estado da Bahia, associado a uma introdução independente, provavelmente relacionada a cepas provenientes de Angola (Donalisio; Freitas, 2015; Nunes et al., 2015; Petersen; Powers, 2016).

Algumas linhagens do genótipo ECSA, especialmente a linhagem do Oceano Índico, apresentam mutações adaptativas, como E1-A226V e alterações em E2, que podem aumentar a infectividade e a transmissão por *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera: Culicidae) (Tsetsarkin et al., 2009). No entanto, os genomas brasileiros iniciais do ECSA não apresentavam as mutações E1-A226V e E2-L210Q associadas à adaptação a *Ae. albopictus* (Nunes et al., 2015).

1 Dicente em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão/Bolsista DTI-C/CNPq.
2 Mestre em Ciência Animal pela Universidade Estadual do Maranhão/Bolsista BATI II.
3 Graduanda em Ciências Biológicas Licenciatura pela Universidade Estadual do Maranhão/Bolsista PIBIC/UEMA.
4 Doutora em Ciências Biológicas, Professora Associada II do Departamento de Química e Biologia da Universidade Estadual do Maranhão, Campus Caxias.
5 Doutora em Entomologia Agrícola, Professora Associada I do Departamento de Química e Biologia da Universidade Estadual do Maranhão, Campus Caxias.

Por outro lado, o genótipo Asiático apresenta menor tendência de adaptação a *Ae. albopictus*, sendo sua transmissão nas Américas predominantemente associada a *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae).

Como os demais vírus pertencentes ao gênero *Alphavirus*, o CHIKV é um vírus envelopado, esférico, com cerca de 65–70 nm de diâmetro, apresentando capsídeo com simetria icosaédrica T = 4, formado por 240 monômeros da proteína do capsídeo. Seu genoma é constituído por RNA de fita simples, sentido positivo, com aproximadamente 11–12 kb, contendo duas fases abertas de leitura (open reading frames - ORFs). A primeira ORF, localizada na região 5' do genoma, codifica as proteínas não estruturais nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4, envolvidas na replicação viral, sendo a nsP4 a RNA polimerase dependente de RNA (RdRp). A segunda ORF, localizada na região 3' e expressa a partir do RNA subgenômico 26S, codifica as proteínas estruturais C, E3, E2, 6K e E1, responsáveis pela formação da partícula viral, montagem do nucleocapsídeo, composição do envelope e interação com a célula hospedeira (Strauss; Strauss, 1994; Rupp et al., 2015; ViralZone, 2024).

A transmissão do CHIKV no ciclo urbano ocorre principalmente por mosquitos do gênero *Aedes*, especialmente *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. A ampla distribuição desses vetores aumenta a extensão geográfica e o potencial de circulação viral, uma vez que *Ae. aegypti* é reconhecido como o principal vetor urbano de chikungunya no Brasil, enquanto *Ae. albopictus* apresenta competência vetorial e expansão territorial no país (Donalisio; Freitas, 2015; Variza et al., 2022). Além disso, registros recentes indicam a presença de *Ae. albopictus* em todos os estados brasileiros, reforçando a necessidade de vigilância entomológica contínua (Variza et al., 2022; Rocha et al., 2023).

O principal ciclo de transmissão do CHIKV em áreas urbanas envolve seres humanos e mosquitos vetores, especialmente *A. aegypti* e *A. albopictus*, favorecendo a circulação viral em grandes centros urbanos tropicais e subtropicais (Caglioti et al. 2013; Lopes; Nozawa; Linhares, 2014; Silva et al., 2023). Além do ciclo urbano, o CHIKV também apresenta ciclos enzoóticos/silvestres descritos principalmente na África, envolvendo mosquitos e primatas não humanos, com eventuais transbordamentos para humanos. Mais recentemente, a possível participação de morcegos na ecologia de arbovírus, incluindo alphavírus, tem sido investigada; no entanto, seu papel na manutenção, amplificação ou transmissão do CHIKV ainda não está estabelecido (Bittar et al., 2018; Kading et al., 2022; Moreira-Marrero et al., 2022; Hernández-Aguilar et al., 2023; Yeh-Gorocica et al., 2024).

De fato, algumas pesquisas utilizando transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e Nested-PCR têm demonstrado a presença de RNA de vírus pertencentes ao gênero *Alphavirus* em amostras de morcegos (Guzmán et al., 2020; Moreira-Marrero et al., 2022; Yeh-Gorocica et al., 2024). A principal limitação na interpretação desses achados está relacionada ao fato de que a detecção molecular de fragmentos conservados, como aqueles do gene que codifica a proteína não estrutural nsP4, permite identificar alphavírus, mas não comprova necessariamente infecção ativa ou replicação viral no hospedeiro. A nsP4 é uma proteína não estrutural essencial para a replicação dos alphavírus, pois apresenta atividade de RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) (Strauss; Strauss, 1994; ViralZone, 2024). Assim, a identificação de sequências relacionadas à nsP4 em morcegos, como relatado por Yeh-Gorocica et al. (2024), reforça a necessidade de estudos complementares, incluindo sequenciamento, análise filogenética, isolamento viral e/ou detecção de RNA replicativo, para confirmar a identidade viral e esclarecer o possível papel desses animais na ecologia dos alphavírus.

Dessa forma, a presente pesquisa tem como foco investigar a presença de sequências associadas ao CHIKV em morcegos capturados no município de Carolina, Maranhão, com o intuito de gerar informações relevantes para a vigilância em saúde pública. Considerando que arboviroses causadas por vírus do gênero *Alphavirus* circulam no Brasil e representam importante desafio epidemiológico, a investigação de possíveis hospedeiros silvestres pode contribuir para ampliar o conhecimento sobre a diversidade viral, os ciclos de circulação e os fatores

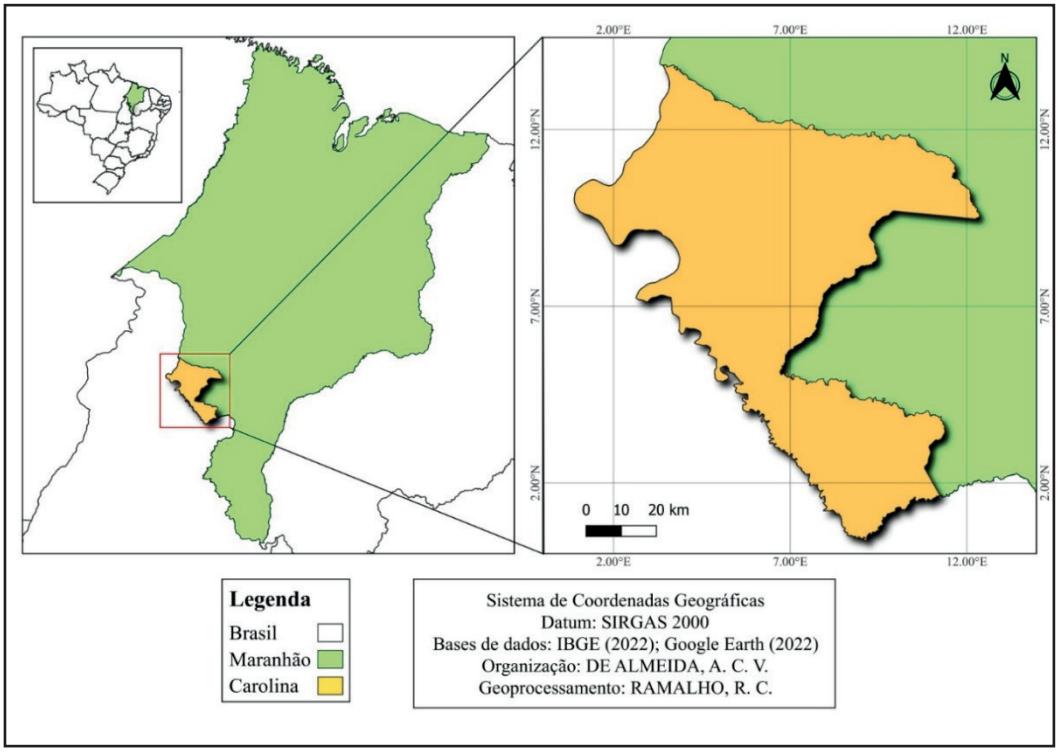
envolvidos na manutenção desses patógenos no ambiente. Além disso, estudos dessa natureza podem fornecer subsídios para o fortalecimento da vigilância epidemiológica e entomológica, auxiliando na identificação de áreas de risco, na compreensão da dinâmica de transmissão e na elaboração de estratégias voltadas à prevenção de futuros surtos de chikungunya.

METODOLOGIA

Áreas, períodos e esforço de captura dos morcegos

Os morcegos foram capturados no Parque Nacional das Chapadas das Mesas, no município de Carolina, estado do Maranhão, em duas expedições realizadas no ano de 2022 (Fig. 1). As coletas foram conduzidas nos períodos diurno e noturno, com esforço mínimo de seis horas diárias de captura. Os pontos amostrais contemplaram diferentes ambientes, incluindo áreas próximas a estradas, rios, cursos d'água e cavernas, visando abranger locais potenciais de abrigo, deslocamento e forrageamento dos morcegos. As coletas foram realizadas mediante autorizações concedidas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), por meio do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob os números 64666-1 e 68047-2. O manejo e a utilização do material biológico foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Maranhão, conforme os protocolos nº 025/2019 e nº 11/2020.

Figura 1 - Localização geográfica das áreas de coleta de morcegos no município de Carolina, Maranhão, para detecção do vírus Chikungunya.



Fonte: Autor, 2025.

Os morcegos capturados foram acondicionados em sacos de pano e transportados ao Laboratório de Genética (LABGEN) situado no Complexo dos Laboratórios de Genética e Biologia Molecular (GENBIMOL) da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), *campus* Caxias. No laboratório, os espécimes foram fotografados, mensurados com auxílio de

paquímetro digital e manual, identificados taxonomicamente, pesados, sexados e avaliados quanto ao estado reprodutivo. Em seguida, os animais foram submetidos à eutanásia com pentobarbital sódico (Dolethal®, Vetoquinol, Lure, França), após anestesia química com cetamina (10 mg/kg) e xilazina (1 mg/kg), sob supervisão de médico-veterinário. Amostras de sangue, cérebro, pulmão, fígado, baço, intestino, rins e coração foram coletadas assepticamente, armazenadas em RNAlater® (Thermo Fisher Scientific, São Paulo, SP, Brasil) e mantidas a −80 °C até o processamento molecular. As amostras foram identificadas por códigos alfanuméricos compostos pela sigla PNCM, referente ao Parque Nacional da Chapada das Mesas, seguida de numeração sequencial conforme a ordem de obtenção.

Identificação do CHIKV em morcegos

As etapas de extração do RNA total foram realizadas no Laboratório de Bactérias Entomopatogênicas e Marcadores Moleculares (BEMMOL), da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), *campus* Caxias. O RNA total foi extraído de amostras de coração, fígado, pulmão, rins e intestino dos morcegos utilizando o TRIzol™ Reagent Invitrogen™ (Thermo Fisher Scientific, São Paulo, SP, Brasil), conforme as recomendações do fabricante. Após a extração, alíquotas do RNA total foram submetidas à eletroforese em gel de agarose para avaliação qualitativa da integridade do material genético.

As etapas de transcrição reversa para síntese de DNA complementar (cDNA) e posterior amplificação por reação em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas no Laboratório de Genética (LABGEN). A síntese de cDNA foi conduzida utilizando o kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega, São Paulo, SP, Brasil), conforme as recomendações do fabricante descritas na Tabela 1.

Tabela 1 – Componentes da reação de transcrição reversa utilizados para a síntese de cDNA a partir do RNA total extraído de amostras de morcegos.

Reagentes	Volume/reação
RNA total	1,5 µl
Primer [Oligo(dT)	1,25 µl
Random Primer	1,25 µl
Água Livre de Nuclease	1 µl
GoScript™ 5X Reaction Buffer	4 µl
$MgCl_2$	2,5 µl
PCR Nucleotide Mix	1 µl
GoScript™ Reverse Transcriptase	1 µl
Água Livre de Nuclease	6,5

As etapas de reações de PCR foram conduzidas conforme as condições descritas na Tabela 2, utilizando os primers específicos apresentados na Tabela 3. As amostras foram submetidas a 45 ciclos de amplificação, constituídos por desnaturação a 95 °C por 3 s, anelamento a 60 °C por 30 s e extensão a 60 °C por 30 s, conforme as condições estabelecidas para o ensaio.

A presença dos produtos amplificados foi verificada por eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Para isso, 7 µL do produto de PCR foram misturados ao tampão de carregamento Blue/Orange 6X Loading Dye e aplicados no gel. Os fragmentos foram separados por eletroforese em tampão TBE 0,5X, sob tensão de 90 V por 15 min. Após a corrida eletroforética, o gel foi visualizado em transiluminador de luz ultravioleta (UV) e fotografado para documentação dos resultados (Green; Sambrook, 2012).

Tabela 2 – Reagentes utilizados na PCR para amplificação da região nsP4 do vírus **Chikungunya.**

Reagentes	Volume/reação
Água livre de nucleases	8 µL
Iniciadores Alpha 1^{+}/Alpha 1^{-}	0,75µL de cada
PCR Master Mix 2x	12,5µL
cDNA viral	3µL

Tabela 3 – Sequências dos primers utilizados para amplificação da região nsP4 de *Alphavirus* em amostras de morcegos.

Primers	**Sequências[1]**	**TA (ºC)[2]**	**Referência**
Chik-nsp-P	5'- TGTACTGGCWGCAGCCACG-3'	60	Pabbaraju *et al*. (2016)
Chik-nsp-R	5'- ATAGGGCTGGCAGCAAATTC-3'		

[1]Sequências dos *primers* direcionados à região nsP4 utilizadas na PCR para amplificação do CHIKV;
[2]Temperatura de Anelamento (ºC).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com as coletas, foram capturados 19 espécimes de morcegos. Desse total, 17 foram identificados em nível de espécie e dois em nível de gênero. Os espécimes analisados foram distribuídos em seis gêneros, contemplando sete espécies identificadas. A relação completa dos táxons registrados, incluindo gênero e/ou espécie, encontra-se apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 - Código, identificação taxonômica e amostras biológicas dos morcegos capturados em Carolina, Maranhão, submetidas à amplificação da região nsP4 de *Alphavirus*.

Ord.	Código[1]	Identificação taxonômica	Amostras biológicas
1	PNCM 01	*Artibeus planirostris*	Coração e rim
2	PNCM 03	*A. planirostris*	Rim
3	PNCM 12	*A. planirostris*	Rim
4	PNCM 16	*Desmodus rotundus*	Rim
5	PNCM 17	*Carollia perspicillata*	Coração e rim
6	PNCM 21	*Phyllostomus hastatus*	Coração
7	PNCM 32	*P. hastatus*	Pulmão
8	PNCM 45	*C. perspicillata*	Coração e pulmão
9	PNCM 46	*A. planirostris*	Coração
10	PNCM 51	*Phyllostomus discolor*	Pulmão
11	PNCM 57	*Platyrrhinus sp.*	Intestino
12	PNCM 60	*Platyrrhinus sp.*	Fígado
13	PNCM 61	*P. hastatus*	Coração
14	PNCM 67	*A. planirostris*	Rim
15	PNCM 77	*P. hastatus*	Rim
16	PNCM 84	*Artibeus obscurus*	Rim
17	PNCM 88	*C. perspicillata*	Coração
18	PNCM 99	*A. planirostris*	Coração
19	PNCM 118	*Platyrrhinus recifinus*	Rim

[1]PNCM – Parque Nacional Chapada das Mesas.

As sete espécies investigadas nesse estudo foram *Artibeus planirostris* (n = 6), *Phyllostomus hastatus* (n = 4), *Carollia perspicillata* (n = 3), *Desmodus rotundus* (n = 1), *Phyllostomus discolor* (n = 1), *Artibeus obscurus* (n = 1) *Platyrrhinus recifinus* (n = 1). Além desses, dois espécimes foram identificados apenas em nível de gênero, sendo classificados como *Platyrrhinus* sp. (n = 2). Todos os indivíduos amostrados pertencem à família Phyllostomidae, evidenciando a representatividade desse grupo na amostragem realizada. Essa família é reconhecida como uma das mais diversas entre os morcegos neotropicais, apresentando elevada riqueza de espécies, ampla distribuição geográfica e diversidade de hábitos alimentares na região tropical (Rocha et al., 2010; Holanda, De Oliveira, Ribeiro, 2012; Garbino et al., 2024).

Foram utilizadas 22 amostras provenientes dos 19 espécimes de morcegos para os testes de amplificação da região nsP4. As amostras corresponderam a um ou dois órgãos por animal, sendo que, para a maioria dos espécimes, foi analisada apenas uma amostra tecidual. Entre os tecidos avaliados, o rim foi o mais representativo, seguido por coração, pulmão, intestino e fígado. Todas as amostras foram submetidas às etapas de extração de RNA, síntese de cDNA e PCR, conforme os protocolos previamente estabelecidos, adotando-se medidas para minimizar o risco de contaminação. No entanto, nenhuma amostra apresentou resultado positivo, não sendo observadas bandas compatíveis com a região nsP4 de alphavírus/CHIKV nas condições experimentais empregadas.

Resultados semelhantes foram descritos em outros estudos envolvendo a investigação molecular de arbovírus em morcegos. Bittar et al. (2018), ao avaliarem amostras de morcegos provenientes do Brasil por Nested-PCR e teste de inibição da hemaglutinação, não detectaram evidências moleculares ou sorológicas de infecção por arbovírus dos gêneros *Alphavirus* e *Flavivirus* nos espécimes de morcegos analisados. De forma semelhante, Espinoza-Gómez et al. (2022), ao investigarem sequências virais em morcegos hematófagos, *D. rotundus*, no México, não detectaram CHIKV ou DENV, embora tenham identificado amplicons de 100 pb compatíveis com ZIKV e de 581 pb compatíveis com o vírus da raiva (RABV). Hernández-Aguilar et al. (2023), por sua vez, avaliaram amostras de fígado de 162 morcegos neotropicais, pertencentes a 23 espécies capturadas em Oaxaca, México, e também não detectaram RNA viral de DENV, ZIKV ou CHIKV nas amostras analisadas. Esses achados reforçam que a ausência de amplificação para CHIKV em morcegos tem sido relatada em diferentes regiões, embora não exclua a possibilidade de infecção em outros contextos ecológicos, períodos sazonais, espécies hospedeiras ou tipos de amostras biológicas.

Embora alguns estudos tenham detectado fragmentos de RNA ou indícios sorológicos de exposição a vírus do gênero *Alphavirus* em diferentes espécies de morcegos (Guzmán et al., 2020; Kading et al., 2022; Moreira-Marrero et al., 2022; de Souza et al., 2024; Yeh-Gorocica et al., 2024), as evidências disponíveis ainda são insuficientes para confirmar que esses animais desempenhem papel relevante na manutenção de um ciclo enzoótico do CHIKV. Assim, a possível participação de morcegos na ecologia do CHIKV permanece uma hipótese em investigação, exigindo estudos complementares que integrem detecção molecular, isolamento viral, sorologia, análise filogenética e avaliação da competência desses hospedeiros na transmissão viral (Weinberg; Yovel, 2022; Hernández-Aguilar et al., 2023).

A heterogeneidade dos achados disponíveis sugere que os resultados podem ser influenciados por fatores como local de coleta, espécies de morcegos avaliadas, período de amostragem, tipo de tecido analisado e metodologia empregada. Assim, a interpretação desses dados deve ser feita com cautela. Apesar de alguns estudos relatarem detecção molecular ou evidências sorológicas de exposição a alphavírus em morcegos, a ausência de isolamentos virais consistentes, de demonstração de viremia suficiente para infectar mosquitos vetores e de experimentos que comprovem a transmissão indica que, até o momento, o possível envolvimento desses animais no ciclo enzoótico do CHIKV permanece hipotético (Hernández-Aguilar et al., 2023).

Apesar do resultado negativo, o presente estudo contribui para reduzir lacunas no conhecimento sobre a investigação molecular de CHIKV em morcegos no estado do Maranhão. A ausência de amplificação da região nsP4 nas amostras analisadas não exclui a possibilidade de circulação viral em outros hospedeiros, períodos sazonais, áreas geográficas ou tipos de amostras

biológicas. Considerando que a chikungunya ocorre na região e representa um problema relevante para a saúde pública, estudos voltados à vigilância de possíveis hospedeiros silvestres são importantes para ampliar a compreensão sobre a ecologia viral, os ciclos de circulação e os fatores que podem favorecer a dispersão, a diversificação genética e a adaptação desses patógenos a novos hospedeiros. Dessa forma, recomenda-se a continuidade das investigações, com ampliação do número de amostras, inclusão de diferentes espécies de morcegos, análise de outros tecidos e utilização de abordagens complementares, como sequenciamento e testes sorológicos.

CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu investigar morcegos do município de Carolina, Maranhão, quanto a presença de sequências associadas ao gene nsP4 do CHIKV. Todos os espécimes capturados pertencem à família Phyllostomidae, grupo amplamente distribuído na região Neotropical e reconhecido por sua elevada diversidade ecológica. Entre as espécies identificadas, *A. planirostris* foi a mais representativa, evidenciando sua maior frequência na amostragem realizada.

A análise molecular das amostras não revelou amplificação compatível com o gene nsP4 de CHIKV, indicando ausência de detecção viral nos tecidos avaliados e nas condições experimentais empregadas. Esse resultado sugere que, no conjunto amostral analisado, não houve evidência molecular da presença de CHIKV nos morcegos investigados. No entanto, a ausência de amplificação não descarta a possibilidade de circulação de CHIKV ou de outros *Alphavirus* em diferentes espécies, períodos sazonais, áreas geográficas, tipos de tecidos ou em amostragens mais amplas.

Dessa forma, os dados obtidos contribuem para o conhecimento sobre a vigilância molecular de arbovírus em morcegos no Maranhão e reforçam a importância de estudos contínuos envolvendo hospedeiros silvestres. A continuidade desta pesquisa é imprescindível para o monitoramento de *Alphavirus* em morcegos na região, com ampliação do número de amostras, inclusão de diferentes localidades e uso de metodologias complementares, como sequenciamento, sorologia e análise filogenética. Essas abordagens poderão gerar subsídios mais consistentes para esclarecer o possível papel dos morcegos na ecologia, manutenção e transmissão desses vírus, contribuindo para a vigilância epidemiológica e para a saúde pública.

AGRADECIMENTOS: FAPEMA, UEMA.

REFERÊNCIAS

BITTAR, C. et al. **Lack of serological and molecular evidence of arbovirus infections in bats from Brazil**. *PLoS One*, v. 13, n. 11, p. e0207010, 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Cenário epidemiológico das arboviroses: 8ª Reunião Ordinária da Comissão Intergestores Tripartite**. Brasília: Conselho Nacional dos Secretários de Saúde, 2025. Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/acesso-a-informacao/gestao-do-sus/articulacao-interfederativa/cit/pautas-de-reunioes-e-resumos/2025/agosto/informe-cenario-epidemiologico-das-arboviroses. Acesso em: 28 maio 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Monitoramento das arboviroses e balanço de encerramento do Comitê de Operações de Emergência (COE) Dengue e outras Arboviroses 2024**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, 2024. (Boletim

Epidemiológico, v. 55, n. 11). Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2024/boletim-epidemiologico-volume-55-no-11.pdf/view. Acesso em: 25 maio 2026.

CAGLIOTI, C. et al. **Chikungunya virus infection: an overview**. *New Microbiologica*, v. 36, n. 3, p. 211-227, 2013.

DE SOUZA, W. M. et al. **Serosurvey of chikungunya virus in old world fruit bats, Senegal, 2020-2022**. *Emerging Infectious Diseases*, v. 30, n. 7, p. 1490, 2024.

DONALÍSIO, M. R.; FREITAS, A. R. R. **Chikungunya no Brasil: um desafio emergente**. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 18, p. 283-285, 2015.

ESPINOZA-GÓMEZ, A. et al. **Identification of viral RNA sequences in vampire bats (*Desmodus rotundus*) from central Mexico**. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, v. 93, 2022.

FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz; MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Impacto de uma década de transmissão da chikungunya nas Américas é destaque na The Lancet Regional Health – Americas**. Salvador: Fiocruz Bahia, 2024. Disponível em: https://www.bahia.fiocruz.br/impacto-de-uma-decada-de-transmissao-da-chikungunya-nasamericas-e-destaque-na-the-lancet-regional-health-americas/. Acesso em: 9 mar. 2025.

GARBINO, G. S. T. et al. **Updated checklist of bats (Mammalia: Chiroptera) from Brazil**. *Zoologia (Curitiba)*, v. 41, p. e23073, 2024.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 4. ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012.

GUZMÁN, C. et al. **Molecular and cellular evidence of natural Venezuelan equine encephalitis virus infection in frugivorous bats in Colombia**. *Veterinary World*, v. 13, n. 3, p. 495, 2020.

HERNÁNDEZ-AGUILAR, I. et al. **Molecular detection of dengue virus, Zika virus, and chikungunya virus arboviruses in neotropical bats**. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v. 23, n. 8, p. 428-436, 2023.

HOLANDA, G. M.; DE OLIVEIRA, E. H. C.; RIBEIRO, N. A. B. **Geographic dispersion of Phyllostomidae family (Chiroptera) based on cytochrome b sequences**. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 3, n. 3, p. 11, 2012.

HONÓRIO, N. A. et al. **Chikungunya: uma arbovirose em estabelecimento e expansão no Brasil**. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 31, p. 906-908, 2015.

ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses. **Master Species Lists (MSL)**. 2026. Disponível em: https://ictv.global/msl. Acesso em: 25 maio 2026.

KADING, R. C. et al. **Exposure of Egyptian rousette bats (*Rousettus aegyptiacus*) and a little free-tailed bat (*Chaerephon pumilus*) to alphaviruses in Uganda**. *Diseases*, v. 10, p. 121, 2022.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. **General features and epidemiology of emerging arboviruses in Brazil**. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 5, p. 55-64, 2014.

MOREIRA-MARRERO, L. et al. **Alphavirus identification in Neotropical bats**. *Viruses*, v. 14, n. 2, p. 269, 2022.

NEWASE, P. et al. **Chikungunya phylogeography reveals persistent global transmissions of the Indian Ocean Lineage from India in association with mutational fitness**. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 82, p. 104289, 2020.

NUNES, M. R. T. et al. **Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil**. *BMC Medicine*, v. 13, p. 102, 2015.

PABBARAJU, K. et al. **Simultaneous detection of Zika, Chikungunya and Dengue viruses by a multiplex real-time RT-PCR assay**. *Journal of Clinical Virology*, v. 83, p. 66-71, 2016.

PETERSEN, L. R.; POWERS, A. M. **Chikungunya: epidemiology**. *F1000Research*, v. 5, p. F1000 Faculty Rev-82, 2016.

PHADUNGSOMBAT, J. et al. **A novel sub-lineage of chikungunya virus East/Central/South African genotype Indian Ocean lineage caused sequential outbreaks in Bangladesh and Thailand**. *Viruses*, v. 12, n. 11, 2020.

ROCHA, P. A. et al. **Morcegos (Mammalia, Chiroptera) capturados no Campus da Universidade Federal de Sergipe, com oito novos registros para o estado**. *Biota Neotropica*, v. 10, p. 183-188, 2010.

ROCHA, R. C. et al. **First official record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Diptera: Culicidae) in the Acre state, northern Brazil**. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 65, p. e20, 2023.

RUPP, J. C. et al. **Alphavirus RNA synthesis and non-structural protein functions**. *Journal of General Virology*, v. 96, p. 2483-2500, 2015.

SILVA, A. S. et al. **Arboviroses com ênfase nas transmitidas por mosquitos**. *In*: LEMOS, E. R. S. et al. (ed.). *Tópicos em virologia*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2023. p. 233-260.

SOUZA, W. M. et al. **Chikungunya: a decade of burden in the Americas**. *The Lancet Regional Health – Americas*, v. 30, 2024.

STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. **The alphavirus: gene expression, replication, and evolution**. *Microbiological Reviews*, v. 58, n. 3, p. 491-562, 1994.

TSETSARKIN, K. A. et al. **Epistatic roles of E2 glycoprotein mutations in adaptation of chikungunya virus to *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* mosquitoes**. *PLoS One*, v. 4, n. 8, p. e6835, 2009.

VARIZA, P. F. et al. **Updated spatio-temporal distribution of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in Brazil**. *Acta Tropica*, v. 232, p. 106511, 2022.

VIRALZONE. **Virus properties**. Disponível em: https://viralzone.expasy.org/3. Acesso em: 22 fev. 2025.

WEINBERG, M.; YOVEL, Y. **Revising the paradigm: are bats really pathogen reservoirs or do they possess an efficient immune system?** *iScience*, v. 25, n. 8, 2022.

YEH-GOROCICA, A. et al. **Prevalence of Flavivirus and Alphavirus in bats captured in the state of Yucatán, southeastern Mexico**. *One Health*, v. 19, p. 100876, 2024.