

Detecção de Adenovírus em Carnívoros Sul-Americanos

Henrique Christino Lial; Carlos Sacristán; Pedro Navas Suárez; José Luiz Catão-Dias

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de

São Paulo

henriquebial@usp.br

Objetivos

Os objetivos do trabalho foram detectar e identificar a ocorrência de adenovírus em carnívoros selvagens mortos em colisões veiculares em três estados brasileiros (SP; PR; MS). Ainda, buscou-se descrever lesões potencialmente decorrentes da infecção por esse patógeno e marcá-lo por meio da imuno-histoquímica.

Métodos e Procedimentos

Amostras de baço de 54 indivíduos, representando um total de 11 espécies de carnívoros, foram maceradas manualmente e tiveram seu DNA total extraído com kit de colunas de sílica comercial. Em seguida, o gene DNA polimerase de adenovírus foi amplificado segundo Li *et al.*, (2010); os amplicons com tamanho condizente ao esperado foram sequenciados pelo método Sanger e comparados às sequências de adenovírus disponíveis no GenBank/EMBL/DDBJ por meio do algoritmo BLAST. Tecidos disponíveis de ca-sos positivos foram avaliados histopatolo-gicamente sob microscopia óptica. Em casos positivos para a PCR foi feita a imuno-histoquímica com o anticorpo monoclonal contra adenovírus por meio da amplificação com polímeros conjugados com peroxidase e fosfatase.

Resultados

Um macho adulto de jaguatirica (*Leopardus pardalis*), coletado no município de Barra do Turvo (São Paulo), foi positivo (Figura 1). Na necropsia observou-se megalia de baço e de linfonodos mesentéricos. A avaliação histopatológica revelou hiperplasia folicular linfonodal mesentérica e colite parasitária associada a

larvas de parasitas metazoários, assim como hemorragia perivascular e subpleural, edema alveolar e hipertrofia da túnica média de artérias pulmonares. Houve imunomarcagem do citoplasma dos linfócitos foliculares. A maior semelhança encontrada em relação à sequência de nucleotídeos (68,6%) e aos aminoácidos deduzidos (78,1%) da sequência obtida foi com adenovírus descritos em pinípedes do Peru e dos Estados Unidos da América (MF175103.1 e AF90825, respectivamente), e não se agrupou a outras sequências de adenovírus.

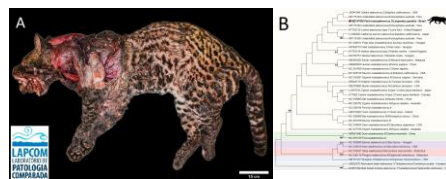


Figura 1: (A) Jaguatirica (*Leopardus pardalis*) positiva para Adenovírus; (B) Árvore filogenética de proximidade dos adenovírus

Conclusões

Neste estudo detectamos uma nova espécie de adenovírus infectando uma jaguatirica, o primeiro relato em felídeos selvagens da América do Sul. A imunomarcagem foi inconclusiva. Os achados histopatológicos são condizentes com a infecção parasitária e atropelamento. Embora não tenham sido identificadas alterações histopatológicas associadas ao adenovírus, não é possível descartar sua eventual patogenicidade.

Referências Bibliográficas

Li Y, Ge X, Zhang H, Zhou P, Zhu Y, Zhang Y, Yuan J, Wang LF, Shi Z (2010) J Virol 84:3889-3897

Adenovirus surveillance in South American carnivores.

Henrique Christino Lial; Carlos Sacristán; Pedro E. Navas Suárez

José Luiz Catão-Dias

School of Veterinary Medicine and Animal Science

henriquelial@usp.br

Objectives

The objectives of this project were to detect and identify adenoviruses within wild roadkill carnivores from three Brazilian states (São Paulo, Paraná and Mato Grosso do Sul). We also sought to describe lesions potentially associated with that pathogen and mark it through immunohistochemistry.

Materials and Methods.

Spleen samples from 54 carnivores of 11 different species were manually macerated and had their total DNA extracted using a commercial silica columns kit. Then, the DNA polymerase gene of adenovirus was amplified by PCR according to Li *et al.*, (2010); the amplicons that matched to the expected size were sequenced using the Sanger method and then compared to other adenovirus sequences available at the GenBank/EMBL/DDBJ databases using the BLAST algorithm. Tissues from the positive cases were histopathologically evaluated under optical microscopy. On PCR-positive cases, an immunohistochemistry with monoclonal antibody against adenovirus was conducted by amplification with polymers conjugated with peroxidase and phosphatase.

Results

One out of 54 carnivores tested positive, an adult male ocelot (*Leopardus pardalis*), collected at the Barra do Turvo municipality (São Paulo). The sequence obtained had the highest nucleotide (68.6%) and deduced amino acid identities (78.1%) to adenovirus sequences previously identified in pinnipeds from Peru and the United States of America (MF175103 and AFS90825, respectively) and

did not cluster with other adenovirus sequences (Figure 1).

We observed mesenteric lymph node hyperplasia and metazoan-associated parasitic colitis during the necroscopic examination. Microscopically, the animal had pulmonary subpleural and perivascular hemorrhage, alveolar edema and middle tunic hypertrophy of the lung arteries. Lymphocytic follicle's cytoplasm was immunolabeled.

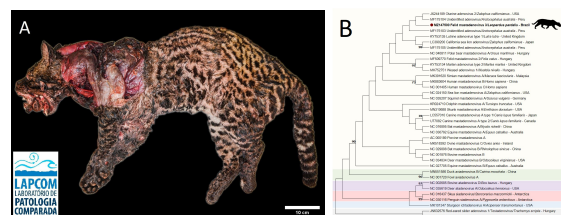


Figure 1: (A) Adenovirus PCR-positive ocelot (*Leopardus pardalis*). (B) Adenovirus Maximum likelihood phylogram.

Conclusions

Herein we detected a novel adenovirus species in an ocelot, the first in South American felids. The immunolabel was considered unspecified. The histopathologic findings were associated with the parasitic infection and the roadkill event. Even though no adenovirus-associated pathological alterations were found, the virus pathogenicity cannot be ruled out.

References

Li Y, Ge X, Zhang H, Zhou P, Zhu Y, Zhang Y, Yuan J, Wang LF, Shi Z (2010) Host range, prevalence, and genetic diversity of adenoviruses in bats. J Virol 84:3889-3897