

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**ISOLAMENTO DE ADENOVÍRUS EM AMOSTRAS FECAIS DE ONÇA-  
PINTADA E JAGUATIRICA PROVENIENTES DE FRAGMENTO DE  
MATA ATLÂNTICA DO SUDESTE DO BRASIL**

**YGOR MACHADO**

**VILA VELHA**  
**MAIO / 2022**

**UNIVERSIDADE VILA VELHA - ES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**ISOLAMENTO DE ADENOVÍRUS EM AMOSTRAS FECAIS DE ONÇA-  
PINTADA E JAGUATIRICA PROVENIENTES DE FRAGMENTO DE  
MATA ATLÂNTICA DO SUDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Vila Velha, como pré-requisito do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**YGOR MACHADO**

**VILA VELHA**  
**MAIO / 2022**

Catálogo na publicação elaborada pela Biblioteca Central / UVV-ES

M149i Machado, Ygor.  
Isolamento de Adenovírus em amostras fecais de onça-pintada e jaguatirica provenientes de fragmento de Mata Atlântica do sudeste do Brasil / Ygor Machado. – 2022.  
30 f. : il.

Orientadora: Ana Carolina Srbek-Araujo.  
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Vila Velha, 2022.  
Inclui bibliografias.

1. Medicina veterinária. Animais carnívoras.  
3. Onças-pintadas. 4. Virose. I. Srbek-Araujo, Ana Carolina.  
II. Universidade Vila Velha. III. Título.

CDD 636.89

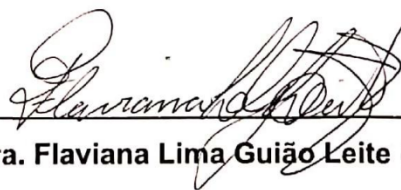
**YGOR MACHADO**

**ISOLAMENTO DE ADENOVÍRUS EM AMOSTRAS FECAIS DE ONÇA-  
PINTADA E JAGUATIRICA PROVENIENTES DE FRAGMENTO DE  
MATA ATLÂNTICA DO SUDESTE DO BRASIL**

Dissertação apresentada à  
Universidade Vila Velha como pré-  
requisito do Programa de Pós-  
graduação em Ciência Animal para  
a obtenção do título de Mestre em  
Ciência Animal.

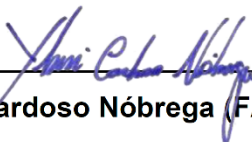
Aprovado em 29 de abril de 2022.

Banca examinadora:



---

**Dra. Flaviana Lima Guião Leite (UVV)**



---

**Dr. Yhuri Cardoso Nóbrega (FAESA e IMD)**



---

**Profa. Dra. Ana Carolina Srbek de Araujo (UVV)**

**Orientadora**

## **AGRADECIMENTOS**

### **À Deus.**

Obrigado pela oportunidade da vida, pela saúde, inteligência, assim como as oportunidades a mim presenteadas.

### **À minha mãe.**

Agradeço de coração à minha mãe pelo incentivo, ajuda e criação. Obrigado por acreditar em mim e me desejar sempre o melhor. Devo tudo a você.

### **Ao Fabio Venturini.**

Obrigado pelo apoio e educação, pelos anos passados em conjunto, ajuda financeira e financiamento dos meus estudos.

### **À Jacqueline Cordeiro Ghiotto.**

Agradeço-lhe pelo amor, carinho, conselhos e toda a ajuda nas horas mais difíceis.

### **À Professora Dra. Ana Carolina Srbek de Araujo.**

Agradeço imensamente sua mentoria, assim como a sua paciência e compreensão, obrigado pelas palavras de sabedoria e incentivo nos momentos difíceis. Obrigado pelos ensinamentos compartilhados e por todo o carinho.

### **Ao Projeto Felinos e toda sua equipe.**

Obrigado pelos ensinamentos, parceria, amizade. Agradeço especialmente ao Me. Hilton Entringer Júnior pelo apoio na identificação das espécies depositantes e das presas (análises de dieta).

### **Ao Daniel Capucho.**

Obrigado pela grande amizade, obrigado por nossas práticas de yoga, por nossas conversas e pela ajuda na formatação desta dissertação.

### **Ao Markson Tibúrcio.**

Obrigado pela parceria, amizade, paciência e compreensão.

### **À Fernanda Ming.**

Obrigado pela ajuda com a formatação e escrita desta dissertação.

### **Aos meus amigos.**

Obrigado pela amizade e ótimos momentos.

### **A todos os meus professores.**

Muito obrigado por compartilhar seus conhecimentos. Agradeço a amizade e inspiração.

**Ao Professor Dr. Fernando Vicentini.**

Obrigado pelo apoio laboratorial e ajuda no processamento das amostras (análises virais).

**À Dra. Ana Paula Jejesky.**

Obrigado pelo trabalho no processamento das amostras (análises virais), assim como pela gentileza e ensinamentos compartilhados.

**À Dra. Maria Benko e ao Centro de Investigação Agrícola da Academia de Ciências da Hungria.**

Obrigado pela parceria no processamento e sequenciamento das amostras (análises virais) utilizadas neste trabalho.

**Ao Instituto Últimos Refúgios.**

Obrigado, em especial ao Leonardo Merçon, por ceder as belíssimas imagens utilizadas nesta dissertação para ilustrar os felinos em estudo.

**À FAPES (Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo).**

Agradeço pela bolsa de mestrado concedida e pelo financiamento das atividades de pesquisa cujos resultados estão parcialmente apresentados nessa dissertação (Projeto FAPES 510/2016 – “Competição, coexistência e saúde geral de grandes felinos na Mata Atlântica de Tabuleiro”).

**À Vale / Reserva Natural Vale.**

Agradeço por permitir o desenvolvimento das atividades de pesquisa na área da Reserva, assim como o apoio financeiro e logístico concedido.

# SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>3</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>9</b>
Área de estudo .....	9
Coleta de amostras fecais .....	10
Processamento laboratorial – Identificação das espécies depositantes .....	11
Processamento laboratorial – Análises virais .....	11
<i>Suspensão das amostras fecais</i> .....	11
<i>Extração de DNA e reação em cadeia da Polimerase (PCR)</i> .....	12
<i>Sequenciamento genético das sequências amplificadas</i> .....	12
<b>RESULTADOS</b> .....	<b>13</b>
<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>21</b>

## RESUMO

MACHADO, Ygor, Me., Universidade Vila Velha – ES, abril de 2022. **Isolamento de Adenovírus em amostras fecais de onça-pintada e jaguatirica provenientes de fragmento de Mata Atlântica do sudeste do Brasil.** Orientadora: Dra. Ana Carolina Srbek-Araujo.

O presente estudo objetivou relatar a presença de adenovírus em amostras fecais de *Panthera onca* e *Leopardus pardalis* coletadas em um remanescente de Mata Atlântica no sudeste do Brasil e investigar a relação entre as presas identificadas e os registros virais, assim como discutir a importância destes carnívoros na manutenção ecológica dos ciclos virais na natureza. As amostragens foram realizadas na Reserva Natural Vale (Linhares / ES), por meio da busca ativa por amostras fecais, durante o período de maio de 2017 a dezembro de 2018. A identificação de material genético viral se deu por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) e as amostras positivas foram encaminhadas ao sequenciamento genético. As sequências obtidas foram comparadas com sequências previamente depositadas na plataforma GenBank. Foram obtidas 43 amostras fecais, sendo 11 (25,6%) de *Panthera onca* e 32 (74,4%) de *Leopardus pardalis*. Destas, sete amostras (16,3%) foram positivas para a presença de material viral, sendo quatro (36,4%) de *Panthera onca*, com o registro de sequências compatíveis com “Desmodus rotundus Adenovírus 1” e “Adenovírus Bovino 11”; e três (9,4%) de *Leopardus pardalis*, com registro de “Adenovírus Bovino 11”, “Adenovírus Quiróptero” e “Adenovírus Símio”. Dados de dieta não evidenciaram o consumo de gado-doméstico por felinos na área de estudo, sugerindo que a presença de “Adenovírus Bovino 11” nas amostras fecais possa estar relacionada ao consumo de espécies de ungulados silvestres infectados por este vírus ou à obtenção de sequências de novos vírus ainda não descritos para ungulados silvestres. Sugere-se que a possível transferência dos vírus para outros organismos também se aplique aos isolados virais associados a morcegos em amostras fecais de *Panthera onca* devido à inexistência de registros do consumo de quirópteros por este predador. Para *Leopardus pardalis*, entretanto, há registro de predação de morcegos e primatas na área de estudo, sendo possível traçar uma relação direta entre o isolado viral e as presas consumidas. Os resultados demonstram a presença de vírus possivelmente relacionados à dieta dos predadores, assim como levanta a hipótese destas espécies estarem contribuindo com a dispersão e manutenção desses microorganismos no ambiente. Sugere-se a continuidade de estudos relacionados às análises de adenovírus em amostras fecais de felinos selvagens, incluindo análises filogenéticas para melhor identificação dos isolados, esclarecendo a participação dos carnívoros na manutenção dos ciclos ecológicos e epidemiológicos virais e sua atuação como potenciais reservatórios.

**Palavras-chave:** Adenoviridae, amostragem não invasiva, Carnívora, ecoepidemiologia, Felidae, Fezes, *Leopardus pardalis*, *Panthera onca*, Vírus.



## ABSTRACT

MACHADO, Ygor, MSc, Vila Velha University – ES, April 2022. **Adenovirus isolation in fecal samples of jaguar and ocelot from a fragment of Atlantic Forest in southeastern Brazil.** Advisor: DSc Ana Carolina Srbek-Araujo.

The aim of this study was to report the presence of adenovirus in fecal samples of *Panthera onca* and *Leopardus pardalis* collected in an Atlantic Forest remnant in southeastern Brazil, investigate the relationship between the identified prey and viral records, as well as to discuss the importance of these carnivores in ecological maintenance of viral cycles in nature. Sampling was carried out in Vale Natural Reserve (Linhares / ES), through active search for fecal samples, during the period from May 2017 to December 2018. The identification of viral genetic material was carried out through the polymerase chain reaction (PCR) and the positive samples were sent for genetic sequencing. The sequences obtained were compared with sequences previously deposited in GenBank. Forty-three fecal samples were obtained, 11 (25.6%) of *Panthera onca* and 32 (74.4%) of *Leopardus pardalis*. Of these, seven samples (16.3%) were positive for the presence of viral material, four (36.4%) of *Panthera onca*, with sequences compatible with “*Desmodus rotundus* Adenovirus 1” and “Bovine Adenovirus 11”; and three (9.4%) of *Leopardus pardalis*, with a record of “Bovine Adenovirus 11”, “Bat Adenovirus” and “Simian Adenovirus”. Diet records did not show the consumption of cattle by felines in the study area, suggesting that the presence of “Bovine Adenovirus 11” in fecal samples may be related to the consumption of wild ungulates infected by this virus or to the obtaining sequences of new viruses not yet described for wild ungulates. We suggested that the possible transfer of viruses to other organisms also applies to bat-associated viral isolates in *Panthera onca* fecal samples due to the lack of records of bat consumption by this predator. However, there are records of bats and primates preyed by *Leopardus pardalis* in the study area, resulting in a direct relationship between the viral isolate and the prey consumed. The results demonstrate the presence of viruses possibly related to the diet of predators, as well as raise the hypothesis that these wild species are contributing to the dispersion and maintenance of these microorganisms in the environment. The continuity of studies related to the analysis of adenovirus in fecal samples of wild cats is necessary, including phylogenetic analyzes for better identification of the isolates, clarifying the participation of carnivores in the maintenance of viral ecological and epidemiological cycles and their role as potential reservoirs.

**Keywords:** Adenoviridae, Carnivora, ecoepidemiology, Felidae, Feces, *Leopardus pardalis*, noninvasive sampling, *Panthera onca*, Virus.

## **Isolamento de Adenovírus em amostras fecais de onça-pintada e jaguatirica provenientes de fragmento de Mata Atlântica do sudeste do Brasil**

Ygor Machado<sup>1</sup> e Ana Carolina Srbek-Araujo<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ecossistemas, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto SerraDiCal de Pesquisa e Conservação, Belo Horizonte, MG, Brasil.

Autor correspondente: Ygor Machado, e-mail: ygo.machado@gmail.com

### **INTRODUÇÃO**

Os carnívoros possuem importância ecológica significativa por atuarem na regulação de populações de presas, por meio da predação, contribuindo desta forma para o equilíbrio e estabilidade dos ecossistemas (e.g. Estes et al. 2011). A perda desses organismos acarreta o aumento do número de indivíduos nas populações de presas e intensifica o uso de determinados recursos, podendo torná-los menos disponíveis para outras espécies, ocasionando a redução da capacidade do ambiente suportar os consumidores e, conseqüentemente, os próprios carnívoros (e.g. Jorge et al. 2013; Ripple et al. 2014). Além destes efeitos, os predadores contribuem para manutenção da saúde das populações de presas ao predarem, em maior proporção, animais debilitados ou doentes (e.g. Packer et al. 2003; Brandell et al. 2022).

Dentre os mamíferos da Ordem Carnivora, destaca-se a Família Felidae que reúne 42 espécies com dieta tipicamente carnívora (Burgin et al. 2018). Os felinos estão distribuídos por todo o globo, com exceção da Austrália e regiões polares (Kitchener et al. 2017). As populações destes predadores, especialmente os felinos de grande porte, vêm enfrentando declínios populacionais em diferentes partes do planeta, sendo que algumas espécies já se encontram em algum grau de ameaça de extinção (Ripple et al. 2014). No Brasil, é relatada a presença de nove espécies de felinos silvestres, sendo elas: onça-pintada (*Panthera onca*), onça-parda (*Puma*

*concolor*), gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-maracajá (*Leopardus wiedii*), gato-do-mato-pequeno-do-norte (*Leopardus tigrinus*), gato-do-mato-pequeno-do-sul (*Leopardus guttulus*), gato-do-mato-grande (*Leopardus geoffroyi*) e gato-palheiro (*Leopardus colocolo*) (Adania et al. 2014).

A onça-pintada (Figura 1) representa o maior felino das Américas, com tamanho que pode variar de 1,57 a 2,41 m de comprimento total, enquanto o peso varia de 57 a 158 kg (Seymour 1989). É um predador oportunista, consumindo principalmente herbívoros, frugívoros e, com menor frequência, carnívoros de menor porte (Hayward et al. 2016). Já foram identificadas mais de 85 espécies na sua dieta, a qual é constituída principalmente por capivaras, veados, queixadas, catetos, antas, preguiças e jacarés (Hayward et al. 2016). A espécie era historicamente encontrada do sudoeste dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Seymour 1989), no entanto, atualmente persiste em apenas cerca de metade da sua área de distribuição original (Quigley et al. 2017). A perda e a fragmentação do habitat são as principais ameaças para a onça-pintada, levando ao isolamento das populações (e.g. Medellín et al. 2002; Campbell, 2015; Olsoy et al. 2016; Quigley et al. 2017). O isolamento de indivíduos em “ilhas” de habitat impede o fluxo gênico entre populações e, desta forma, diminui a introdução de novos alelos e aumenta os efeitos da deriva genética a médio e longo prazo (e.g. Burkey & Reed, 2006; Benson et al., 2019). Em curto prazo, observa-se que a redução do número de indivíduos produz oportunidades restritas de acasalamento, aumentando o grau de parentesco entre os indivíduos e a consanguinidade, resultando em maior risco de fixação de alelos recessivos deletérios, assim como de insucessos reprodutivos (Burkey & Reed, 2006; Haag et al. 2010). Adicionalmente, os atropelamentos, o tráfico ilegal de espécimes (domesticação) e a contínua pressão de caça ilegal (retaliação) e abate (Adania et al. 2014; Graves et al. 2021) contribuem para o declínio das populações, com redução de aproximadamente 30% nas últimas décadas (Quigley et al. 2017). Como consequência, a espécie está classificada como Quase Ameaçada globalmente (Quigley et al. 2017), enquanto no Brasil é considerada Vulnerável à extinção (Morato et al. 2018) e no estado do Espírito Santo está classificada como Criticamente em Perigo (Costa et al. 2019).



**Figura 1.** Onça- pintada (*Panthera onca*). Imagem cedida por Leonardo Merçon, Instituto Último Refúgios.

A jaguatirica (Figura 2) é um felino de pequeno porte, com tamanho entre 70 e 100 cm de comprimento total e peso variando de 11 a 16 kg (Murray & Garner 1997). Sua ocorrência é descrita do sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (Murray & Garner 1997). Sua dieta é bastante variada, sendo composta principalmente por pequenos mamíferos, no entanto, pode consumir aves, répteis e anfíbios em menor proporção (Emmons 1987; Murray & Garner 1997; Abreu et al. 2008). Seu estado de conservação global é considerado como Menos Preocupante, embora suas populações venham decrescendo nos últimos anos (Paviolo et al. 2015). No Brasil, a espécie também é considerada como Menos Preocupante (Oliveira et al. 2013), enquanto no estado do Espírito Santo está classificada como Quase Ameaçada, com a possibilidade da espécie se tornar ameaçada em curto prazo (Costa et al. 2019).



**Figura 2.** Jaguatirica (*Leopardus pardalis*). Imagem cedida por Leonardo Merçon, Instituto Último Refúgios.

Embora a perda e a fragmentação do habitat, além dos conflitos com humanos, sejam as principais ameaças às onças-pintadas, afetando também as jaguatiricas e outros felinos de pequeno porte, cita-se o impacto dos microrganismos sobre as populações de felinos silvestres como uma ameaça potencial, visto que a deterioração ambiental e a ocorrência de doenças têm emergido como um problema para a conservação de carnívoros (Funk et al. 2001).

Os vírus são os organismos mais abundantes em todo o planeta, sendo estimada a existência de mais de 10 milhões de partículas vírais em apenas um mililitro de água do mar (Flint et al. 2015). Trata-se de organismos não celulares que necessitam exclusivamente do metabolismo celular de outros organismos para sua manutenção e perpetuação, estabelecendo uma relação de parasitismo (Bamford et al. 2003; Faillace et al. 2017). Por conta de sua dependência exclusiva da maquinaria celular alheia, os vírus construíram intrincadas relações de coevolução com seus hospedeiros a fim de obter maior sucesso de infecção, melhor metabolismo energético e melhor produção de sua progênie, assim como aperfeiçoados mecanismos de modulação de interações vírus-hospedeiro que evitem a extinção do organismo parasitado (Bamford et al. 2003; Flint et al. 2015).

A capacidade de um vírus produzir morbidade passa pela relação entre virulência viral, resistência ou susceptibilidade do hospedeiro (Flint et al. 2015). Sendo

assim, a determinação da virulência viral é um fator multigênico, estando relacionado ao metabolismo viral, às expressões de proteínas e receptores virais, e à resistência ou susceptibilidade do hospedeiro (Murphy et al. 1999). Esta, por sua vez, é usualmente multifatorial, ou seja, envolve imunidade individual, memória imunológica e condições ambientais, entre outros fatores intrínsecos e extrínsecos ao indivíduo (Murphy et al. 1999). Neste contexto, muitas infecções virais são assintomáticas e subclínicas, enquanto em outros casos a gravidade da doença ou os sinais clínicos podem apresentar grande variação e distinção (Murphy et al. 1999; Faillace et al. 2017). Tendo em vista o exposto, a presença viral não deve ser considerada necessariamente sinônimo de doença.

Para felinos silvestres já foi relatada, em ensaios sorológicos realizados a partir de animais mantidos em cativeiro, a presença de anticorpos para importantes doenças virais, como parvovírus felino, coronavírus felino, calicivirus felino (Filoni et al. 2012) e vírus da Cinomose canina (Terio & Craft 2013). Isso sugere que, em algum momento, estes animais tiveram contato com os patógenos virais, adoecendo ou não. No Brasil, diferentes estudos usando uma variedade de ensaios sorológicos foram conduzidos no intuito de investigar a presença de patógenos com risco para a saúde de felinos selvagens. No entanto, as pesquisas se concentram em vírus específicos, como o vírus da Cinomose canina (Nava et al. 2008; Furtado et al. 2013), o vírus da leucemia felina (Guimarães et al. 2009; Filoni et al. 2012; Furtado et al. 2013), o vírus da imunodeficiência felina (Filoni et al. 2012; Furtado et al. 2013), o vírus da raiva (Jorge et al. 2010; Furtado et al. 2013), o calicivirus felino e o herpesvírus (Filoni et al. 2006; Filoni et al. 2012), o parvovírus felino (Filoni et al. 2006), o coronavírus felino (Filoni et al. 2012) e o lentivírus (Filoni et al. 2006).

Os vírus da família Adenoviridae agrupam-se atualmente em seis gêneros reconhecidos: *Mastadenovirus*, que inclui adenovírus isolados em mamíferos; *Aviadenovirus*, descrito tendo como hospedeiros as aves (Davinson et al. 2003; Benko & Harrach 2003); *Ichtadenovirus*, que inclui um único adenovírus isolado em peixe (Benko & Harrach 2019); *Atadenovirus*, encontrado em vários hospedeiros que incluem ruminantes, marsupiais, aves (Both 2022; Davinson et al. 2003), lagartos e serpentes (Harrach et al. 2019); *Siadenovirus*, que inclui adenovírus de anfíbios (Benko & Harrach 2003) e tartarugas (Harrach et al. 2019; Salzman et al. 2021); e *Testadenovirus*, isolado unicamente em tartarugas-marinhas (Harrach et al. 2019; Salzman et al. 2021). Os adenovírus são vírus comuns na população humana, responsáveis por ocasionar diferentes doenças, como conjuntivite, gastroenterite e

doenças do trato respiratório (Vogels et al. 2003). Na Medicina Veterinária, se destacam os adenovírus caninos tipo 1 e tipo 2, agentes causadores de hepatite, síndromes respiratórias e síndromes entéricas em cães (Buonavoglia & Martella 2007). Apesar da maioria dos adenovírus serem espécie-específicos, já foram relatadas infecções por adenovírus canino tipo 1 em outras espécies de carnívoros de vida livre e em cativeiro nas famílias Canidae, Ursidae e Mustelidae (Woods 2001).

A principal forma de transmissão dos adenovírus é por via oro-fecal ou pelo contato direto com indivíduos contaminados ou fômites, por via respiratória e contato do vírus com a conjuntiva ocular (Runde et al. 2001). São vírus resistentes, permanecendo longos períodos em meio líquido ou em superfícies secas, podendo ser resistentes até mesmo a agentes químicos desnaturantes (Gordon et al. 1993; Mattner et al. 2008). A patogenicidade destes vírus não é bem compreendida, podendo ocasionar desde infecções latentes até doenças ativas, variando com a virulência da cepa e o tempo de coespeciação (Kajan et al. 2019).

Apesar dos vírus se destacarem como patógenos importantes em diferentes espécies, não há estudos sobre a incidência dos adenovírus em felinos selvagens. Tendo em vista o grau de vulnerabilidade na qual os felinos neotropicais se encontram, o monitoramento de potenciais agentes infecciosos possibilita um melhor entendimento quanto à saúde das populações selvagens e pode subsidiar ações de conservação *in situ* e *ex situ* (Murray et al. 1999; Cleaveland et al. 2007; Adania et al. 2014). As investigações epidemiológicas são importantes e devem ser elaboradas em conjunto com estudos multidisciplinares a fim de avaliar a importância dos carnívoros selvagens no ciclo ecológico de microrganismos, bem como seu impacto na Saúde Pública (Jorge et al. 2010). Sendo assim, vale ressaltar que algumas espécies de carnívoros podem ser utilizadas como sentinelas, sendo alvos estratégicos em programas de vigilância para detecção de patógenos e prevenção de doenças (Cleaveland et al. 2007; Furtado & Filoni 2008), atuando também como importantes ferramentas de conservação da natureza.

O presente estudo teve como objetivo relatar a presença de adenovírus em amostras fecais provenientes de felinos selvagens e investigar a relação entre as presas identificadas na amostra com os registros virais, assim como discutir a importância destes carnívoros na manutenção ecológica dos ciclos virais na natureza.

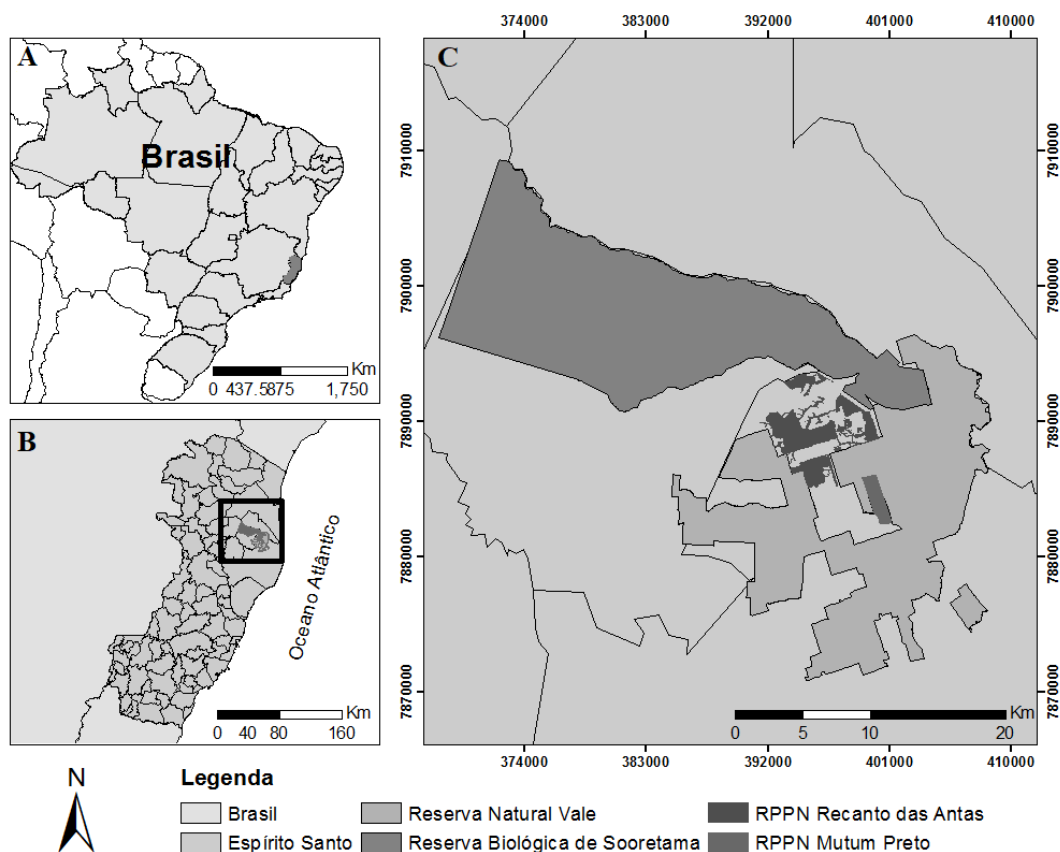
## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### **Área de estudo**

A coleta de dados foi realizada na Reserva Natural Vale (RNV; 19°01'16"S - 19°14'49"S e 40°05'22"W - 39°52'06"W) (Figura 3). Trata-se de uma área protegida privada, localizada na região norte do Espírito Santo, mais precisamente entre os municípios de Linhares e Jaguaré, possuindo cerca de 22.711 ha de área (Kierulff et al., 2014). A RNV, juntamente com a Reserva Biológica de Sooretama, a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Recanto das Antas e a RPPN Mutum Preto, forma o Bloco Linhares-Sooretama (BLS) que representa uma área de floresta contínua com cerca de 53.000 ha. O BLS é considerado o maior remanescente contínuo de vegetação nativa do estado do Espírito Santo e um dos maiores remanescentes de Mata Atlântica de Tabuleiro do Brasil, sendo reconhecidamente uma importante área para conservação de grandes mamíferos (Galetti et al., 2009).

A vegetação da RNV é formada por diferentes tipos vegetacionais, sendo eles a floresta alta, a floresta de muçunuga, as formações de áreas alagáveis ou alagadas e os campos nativos (Peixoto et al., 2008). A floresta alta é a formação predominante, também conhecida como floresta de tabuleiro, sendo classificada como Floresta Estacional Perenifólia uma vez que cerca de 30% das espécies arbóreas apresentam queda total ou parcial de suas folhas na transição entre as estações seca e chuvosa (Kierulff et al. 2014). O clima da região onde se localiza a Reserva é do tipo tropical com inverno seco (Aw; Alvares et al. 2014), apresentando temperatura média anual de 24,3°C ± 2,1 e precipitação média de 1;214.6 mm ± 260,6 (Kierulff et al. 2014). A RNV possui um conjunto de estradas internas não pavimentadas com aproximadamente 126 km de extensão. Essas estradas possibilitam acesso a todas as áreas da Reserva e percorrem todas as fitofisionomias presentes na área (Kierulff et al. 2014). O entorno da RNV é composto por uma matriz marcada principalmente pelo desenvolvimento de atividades agrícolas, representadas principalmente por pastagens, cultivo de mamão, café e eucalipto (Kierulff et al. 2014).





**Figura 3.** Bloco Linhares-Sooretama (BLS), localizado na porção norte do Espírito Santo, sudeste do Brasil (A e B), com detalhe para a área da Reserva Natural Vale (RNV), da Reserva Biológica de Sooretama (RBS) e das Reservas Particulares do Patrimônio Natural (RPPN) Recanto das Antas e Mutum Preto (C).

### Coleta de amostras fecais

O presente estudo foi realizado a partir da análise de amostras fecais coletadas sistematicamente entre maio de 2017 e dezembro de 2018. As coletas se deram por meio de busca ativa durante transecções lineares conduzidas por meio de caminhadas ao longo das estradas internas à RNV, assim como nos aterros e nos aceiros de divisa com propriedades vizinhas à Reserva. As transecções foram realizadas em campanhas com periodicidade mensal, tendo duração de quatro dias, onde ao todo foram percorridos 1.668 km. Em cada campanha, as amostragens foram realizadas considerando a cobertura da maior área possível, incluindo amostragens nas subáreas norte, sul e oeste da Reserva.

As amostras coletadas eram acondicionadas em sacos plásticos e identificadas com um código de registro individual para posterior análise e identificação das espécies em laboratório. Apenas as amostras fecais frescas foram encaminhadas para as análises virais, tendo sido retirada uma fração da amostra original, ainda em

campo, para acondicionamento em tubos plásticos estéreis tipos Falcon. Em ambos os casos, as amostras foram refrigeradas à temperatura de 2 a 8°C em campo, sendo posteriormente mantidas congeladas à temperatura de -20°C até o processamento em laboratório. Todos os pontos de coleta de amostras fecais tiveram o registro das coordenadas geográficas realizado com o auxílio de aparelho GPS.

### **Processamento laboratorial - Identificação das espécies depositantes**

A identificação das espécies depositantes das amostras fecais foi realizada a partir da análise microestrutural (cutícula e medula) de pelos-guarda (Quadros & Monteiro-Filho 2006) considerando estruturas ingeridas pelo predador durante autolimpeza ou durante o consumo de partes das presas. O mesmo procedimento, acrescido da análise morfológica de outros itens não digeridos (dentes, ossos, penas e escamas, por exemplo), também foram adotados para identificação das presas. Os procedimentos citados foram realizados no Laboratório de Ecologia e Conservação de Biodiversidade da Universidade Vila Velha (UVV), no âmbito do Projeto “Variação temporal da dieta de *Panthera onca* em um remanescente de Mata Atlântica” (para detalhes, ver Entringer Jr. 2019). Para os dados referentes à dieta de *Lepardus pardalis*, foi consultado o banco de dados do Projeto Felinos (dados não publicados).

### **Processamento laboratorial – Análises virais**

As amostras fecais destinadas às análises virais foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Campus São Mateus (CEUNES), onde foram realizadas as etapas de suspensão das amostras fecais, extração de DNA e amplificação de material genético por meio da reação em cadeia da Polimerase (PCR) conforme procedimentos descritos a seguir.

#### *Suspensão das amostras fecais*

Foram utilizados aproximadamente 200 mg de cada amostra fecal, diluídos a uma concentração de 20% (g/ml) de 1.000 µL tampão Tris-Cálcio (Tris 0,01 M, CaCl<sub>2</sub> 1,5 mM, pH 7,2), homogeneizadas em agitador tipo Vortex (Biomixer) e centrifugadas em microcentrífuga refrigerada (Novatecnica) a 3.000 rpm por 10 min. Após a transferência do sobrenadante de 700 µL, o resultado da diluição foi mantido a - 20°C até a extração do ácido nucleico viral.

### *Extração de DNA e reação em cadeia da Polimerase (PCR)*

As etapas de extração e amplificação do material genético viral foram realizadas com base no protocolo instituído por Wellehan et al. (2004), utilizando como sequência alvo o gene DNA-polimerase. Para inicialização da reação, utilizou-se os pares de iniciadores Outer Pol Roulter (GTDGCRAANSHNCCRTABARNGMRTT), Outer Pol Router (TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC), Inner polFinner (CANCCBCDRTRTGNARNGTRA) e Inner pol Rinner (GTNTWYGAYATHTYGGHATGTAYGC), sendo obtidos, respectivamente, fragmentos com 550 pb e 300 pb. O volume de reação foi de 50 µl, constituída por 37 µl de água ultrapura esterilizada, 5 µl de 10x buffer de REDTaq DNA Polymerase (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), 1 µl de solução MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 1,5 µl de mistura de desoxirribonucleótido (10 mM), 1 µl de cada primer (50 mM), 2,5 µl REDTaq DNA Polymerase enzyme (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) e 1 µl de amostra (material obtido na etapa de suspensão). Os fragmentos de DNA foram purificados com a utilização do kit NucleoSpin II (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha). Todos os resultados obtidos pela reação de PCR foram seguidos de novas amplificações utilizando a nested-PCR.

### *Sequenciamento genético do material amplificado*

As amostras com resultados positivos após a análise de PCR foram enviadas ao Laboratório Dr<sup>a</sup> Maria Benko, do Instituto de Pesquisa Médica Veterinária, pertencente ao Centro de Investigação Agrícola da Academia de Ciências da Hungria, onde foi realizada a etapa de sequenciamento genético.

O sequenciamento direto dos produtos amplificados e purificados foi determinado com iniciadores internos apropriados em volume de 10 µl usando o kit comercial "Big Dye Terminator® v1.3 Cycle Sequencing Kit" (Applied Biosystems, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. A eletroforese foi realizada pela máquina ABI PRISM 3100. As sequências de DNA foram editadas usando o pacote Staden (Staden et al. 2000) para posteriormente serem comparadas a outras sequências biológicas já depositadas na base de dados da plataforma GenBank usando o programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A identificação viral foi realizada a partir da análise do percentual de identificação e percentual de similaridade, sendo utilizada a determinação que apresentou o maior valor. Casos nos quais o maior valor atribuído aos isolados virais não apresentava correspondência com o ambiente e a área de

ocorrência das espécies depositantes (vírus de cetáceos, exemplo), optou-se em utilizar o segundo maior percentual de similaridade e identidade indicados na base de dados consultada.

## RESULTADOS

Ao todo, 43 amostras fecais foram coletadas e submetidas à técnica de extração do ácido nucléico viral e análise de PCR, sendo 11 (25,6%) de *Panthera onca* e 32 (74,4%) provenientes de *Leopardus pardalis*. A análise de PCR resultou na amplificação de bandas positivas para sete amostras (16,3% do total analisado), sendo quatro (36,4% em relação do total da espécie) de *Panthera onca* e três (9,4%) de *Leopardus pardalis* (Tabela 1).

**Tabela 1:** Resultado dos testes de PCR empregados na detecção de DNA viral em amostras fecais de *Panthera onca* e *Leopardus pardalis* coletadas na Reserva Natural Vale (sudeste do Brasil) entre maio de 2017 e dezembro de 2018.

<b>Código da amostra</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Resultado do PCR</b>
<i>Panthera onca</i>		
01ED060617	jun/17	<b>Positivo</b>
01SH270617	jun/17	<b>Positivo</b>
05EU090817	ago/17	Negativo
01EU141117	nov/17	Negativo
01ED121217	dez/17	<b>Positivo</b>
01EU200318	mar/18	Negativo
02EU150518	mai/18	Negativo
04ED180518	jun/18	<b>Positivo</b>
11EU110718	jul/18	Negativo
02ED140918	set/18	Negativo
03EU241118	nov/18	Negativo
<i>Leopardus pardalis</i>		
04EU160717	jul/17	Negativo
01EU080817	ago/17	Negativo
02EU181017	out/17	Negativo
01EU151217	dez/17	Negativo
01EU240118	jan/18	<b>Positivo</b>
02EU260118	jan/18	<b>Positivo</b>
08EU230118	jan/18	Negativo
01EU020318	mar/18	Negativo
05EU230318	mar/18	Negativo
08EU220318	mar/18	Negativo

01EU110418	abr/18	<b>Positivo</b>
04EU150518	mai/18	Negativo
02ED160518	mai/18	Negativo
02ED170518	mai/18	Negativo
07ED160518	mai/18	Negativo
03ED210618	jun/18	Negativo
03EU200618	jun/18	Negativo
13EU190618	jun/18	Negativo
01ED160818	jul/18	Negativo
04ED140718	jul/18	Negativo
01EU140718	jul/18	Negativo
01EU110718	jul/18	Negativo
09EU120718	jul/18	Negativo
11EU140818	ago/18	Negativo
02ED150818	ago/18	Negativo
02EU130818	ago/18	Negativo
01EU150818	ago/18	Negativo
01EU110918	set/18	Negativo
01ED140918	set/18	Negativo
04ED120918	set/18	Negativo
01EU120918	set/18	Negativo
01EU251018	out/18	Negativo

---

Foram obtidas sete sequências compatíveis com vírus pertencentes à Família Adenoviridae. Os resultados de similaridade e identidade dos vírus isolados nas amostras de *Panthera onca* e *Leopardus pardalis* são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Percentual de similaridade e percentual de identidade das sequências de DNA viral extraídas em amostras fecais de *Panthera onca* e *Leopardus pardalis* coletadas na Reserva Natural Vale (sudeste do Brasil) entre maio de 2017 e dezembro de 2018.

Código da amostra	Identificação viral*	Percentual de similaridade	Percentual de identidade	Nº de acesso
<i>Panthera onca</i>				
01ED060617	<i>Desmodus rotundus</i> Adenovírus 1	87,00%	95,07%	KX774301
01SH270617	<i>Desmodus rotundus</i> Adenovírus 1	86,00%	89,08%	KX774301
01ED121217	Adenovírus Bovino 11	80,00%	80,63%	MK504014
04ED180518	Adenovírus Bovino 11	82,00%	80,65%	MK504014
<i>Leopardus pardalis</i>				
01EU240118	Adenovírus Bovino 11	22,00%	80,00%	MK504014
02EU260118	Adenovírus Quiróptero	71,00%	75,65%	JX065118
01EU110418	Adenovírus Símio 39	53,00%	81,40%	FJ025924

\* Baseado em comparações com sequências biológicas disponível na plataforma GenBank.

## DISCUSSÃO

Houve uma baixa prevalência de adenovírus nas amostras fecais analisadas, embora este parâmetro tenha sido quatro vezes maior para *Panthera onca*, em comparação com *Leopardus pardalis*. Estes resultados se assemelham com aqueles obtidos em estudo sobre a detecção de “Adenovírus do Tipo 1” em fezes de lobos selvagens (*Canis lupus*) nas Astúrias, noroeste da Espanha, o qual foi realizado ao longo de 10 anos (Oleaga et al. 2020). No estudo em questão, foi observada uma prevalência de 14% ao todo, com variação entre 12 e 47%, sendo os lobos considerados reservatórios dos vírus analisados. Os vírus pertencentes à Família Adenoviridae consistem em vírus resistentes, permanecendo longos períodos detectáveis em meio líquido ou em superfícies secas. Sua permanência, em estudos controlados, foi de até 49 dias em meios abióticos, como plástico e metal (Gordon et al. 1993); supostamente em medula óssea humana, por até duas semanas (Mattner et al. 2008); e 384 dias em água de lençóis freáticos (Ogorzaly et al. 2010). Ressalta-se, entretanto, que a extração de DNA fecal possui fatores dificultadores, visto que as condições ambientais, tais como temperatura, umidade e tempo de exposição das

amostras a estes fatores, podem contribuir para a destruição do material genético ali presente (Nsubuga et al. 2002; Chaves et al. 2011; Goosens & Lynn 2013). Outros elementos que contribuem para a degradação do material genético em amostras fecais estão relacionados à própria característica das fezes, como a presença de enzimas digestivas do indivíduo depositante ou produzidas por bactérias presentes na amostra que podem causar a destruição do material genético (Demeke et al. 2009; Goosens & Lynn 2013) ou agir como inibidores químicos que restringem a amplificação do DNA (Goosens & Lynn 2013; Sittenthaler et al. 2021). Neste sentido, a baixa prevalência encontrada no presente estudo pode estar relacionada à natureza das amostras coletadas em vida livre.

Os vírus isolados no presente estudo, conforme grupos indicados em consulta ao GenBank, compreenderam linhagens pertencentes ao gênero *Mastadenovirus*. Este gênero abrange adenovírus descritos exclusivamente em mamíferos, sendo já relatado em inúmeros grupos, tais como carnívoros das Famílias Canidae, Mustelidae (Balboni et al. 2019), Otteridae (Cortes-Hinojosa et al. 2015) e Ursidae (Dayaram et al., 2018), além de primatas humanos e não humanos (Podgorski et al. 2018), morcegos (Li et al. 2010), roedores (Diffo et al. 2019) e ruminantes (Sibley et al. 2011). Não existem na literatura especializada, até o presente momento, relatos de adenovírus infectando a Família Felidae. Ressalta-se que os resultados obtidos no presente estudo estão sendo atribuídos às presas consumidas pelas espécies depositantes (ingestão via dieta) e não a possíveis associações virais próprias das espécies de felinos. De forma semelhante, a presença de vírus das presas permanecendo nas fezes de predadores já havia sido sugerido em outros estudos realizados com pequenos carnívoros (Bodewes et al. 2014; Xie et al. 2019).

Conjuntamente a este estudo, foi desenvolvida a avaliação da dieta de *Panthera onca* (Entringer Jr. 2019) e *Leopardus pardalis* (Projeto Felinos, dados não publicados), a qual incluiu as mesmas amostras fecais submetidas às análises virais. Os dados de dieta apontam o alto consumo de ungulados silvestres por *Panthera onca* na RNV e as amostras analisadas quanto à presença de adenovírus apresentaram resultados que incluem a presença de taiassuídeos (porcos-do-mato), tapirídeos (anta) e cervídeos (veados) entre os itens alimentares. Estudos realizados em outras localidades evidenciaram a presença de anticorpos anti-adenovírus bovino em veado-vermelho (*Cervus elaphus*) e corça (*Capreolus capreolus*), na Grã-Bretanha (Froelich 2000); e em cervo-yezo (*Cervus nippon yezoensis*), no Japão (Yokoi et al. 2009). Mais recentemente, nos Estados Unidos, um novo adenovírus foi isolado em um indivíduo

de veado-da-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), possuindo similiaridade de 76% com o “Adenovírus Bovino do Tipo 3” (Ridpath et al. 2017). Este registro sugere que o contato íntimo entre espécies selvagens de cervídeos e gado-doméstico pode contribuir para potencializar a oportunidade de os vírus infectarem e adquirirem novas espécies hospedeiras, o que representa um alerta especial para o manejo de ungulados silvestres e domésticos (Ridpath et al. 2017). Com base na análise de amostras fecais, não há dados que sugiram o consumo de gado domésticos por *Panthera onca* na RNV (Entringer Jr. 2019), entretanto, relatos pessoais e registros de armadilhas fotográficas evidenciam a presença de gado-doméstico adentrando o interior da Reserva (AC Srbek-Araujo, comunicação pessoal). Sugere-se, portanto, que os registros virais obtidos possam ter ocorrido devido à infecção de ungulados selvagens pelo “Adenovírus Bovino 11”, o qual estaria presente nos animais domésticos das áreas de entorno. Alternativamente, deve-se considerar também a possibilidade de as sequências obtidas estarem relacionadas a novos vírus ainda não descritos para ungulados silvestres e que, deste modo, ainda não constam na base de dados consultada.

Também não existem registros da predação de morcegos por indivíduos de *Panthera onca* na área de estudo (Entringer Jr. 2019) ou em outras localidades ao longo de sua distribuição (Hayward et al. 2016). Entretanto, o risco de transbordamento de vírus presentes em quirópetros para outras espécies de animais é conhecido, inclusive para a espécie humana, seja por meio de contato direto ou indireto (e.g. Luis et al. 2013; Wu et al. 2016; Wang & Anderson 2019). Infecções por vírus de origem em morcegos já foram relatadas em porcos-domésticos por coronavírus (Zhou et al. 2018); em equinos pelo vírus *Hendra* (Field 2016); em humanos pelo *Nipha* (Islan et al. 2016); além da transmissão do vírus da raiva a várias espécies de animais selvagens e domésticas (Condori et al. 2013). Em laboratório, adenovírus isolados a partir das fezes de morcegos se mostraram eficazes em infectar células humanas, de macacos, de cães e de porcos (Li et al. 2010). Tais processos sugerem que a presença de “*Desmodus rotundus* Adenovírus 1” em duas amostras de *Panthera onca* possa ser devido não à predação de morcegos, mas sim à infecção viral por este agente estar acometendo outras espécies predadas pelo felino.

Curiosamente, as duas sequências obtidas de “*Desmodus rotundus* Adenovírus 1” apresentam exatamente a mesma sequência genética, embora o espaço de tempo entre as coletas tenha sido de 21 dias. Tendo em vista o pequeno número de indivíduos de *Panthera onca* na Reserva Natural Vale (Srbek-Araujo & Chiarello



2017), não se exclui a possibilidade de as amostras serem provenientes de um mesmo animal. Tal aspecto, caso confirmado, sugere a permanência das partículas virais no trato gastrointestinal dos indivíduos por longos períodos, o que levanta a hipótese de os felinos estarem atuando como reservatórios, participando do ciclo ecológico viral e contribuindo para a disseminação e perpetuação do mesmo no meio ambiente.

A presença de “Adenovírus Bovino 11” em uma amostra fecal de *Leopardus pardalis* reforça a hipótese descrita anteriormente de que a ocorrência deste grupo de vírus esteja relacionada com o consumo de ungulados silvestres infectados por este agente, visto que a predação de pequenos veados (*Mazama* sp.) é algo já descrito na dieta do felino (e.g. Moreno et al. 2006; Meyer et al. 2002; Abreu et al. 2008; Bianchi et al. 2010), inclusive na RNV (Projeto Felinos, dados não publicados). Entretanto, não foi observada a presença de restos de ungulados silvestres ou domésticos nas amostras de *Leopardus pardalis* analisadas no presente estudo.

De maneira semelhante, a amostra positiva para “Adenovírus Quiróptero” não apresentou resquícios que sugiram a presença de morcegos naquela amostra. Entretanto, em outras amostras foi possível resgatar pelos de morcegos, o que evidencia que este grupo faz parte da dieta de *Leopardus pardalis* na RNV (Projeto Felinos, dados não publicados). Pires et al. (2011), ao avaliar o tempo de detectabilidade de restos alimentares de roedores em fezes de *Leopardus pardalis* alimentados cativos, observaram que os pêlos eram mais abundantes no segundo dia, diminuindo consideravelmente a partir do terceiro dia, não sendo mais encontrados a partir do quinto dia pós o consumo. Considerando o descrito, a presença de “Adenovírus Quiróptero” em amostra que não continha restos de morcegos pode indicar a eliminação de partícula virais nas fezes, independentemente da presença de traços do hospedeiro previamente presumido, algum tempo após a predação (período não definido). Por conseguinte, reforça-se a hipótese de que os adenovírus ingeridos com as presas possam permanecer temporariamente no trato gastrointestinal dos predadores, embora o mecanismo biológico associado ainda não tenha sido explicado.

Os adenovírus apresentam como principal via de infecção a fecal-oral e, neste caso, a infecção ocorre a partir do contato direto de indivíduos susceptíveis com fezes ou objetos contaminados contendo partículas virais viáveis, podendo haver também infecção via respiratória, a partir do contato do vírus com a conjuntiva ocular e nasal (Thompson et al. 1981; Shi et al. 2014). Cita-se que jaguatiricas, entre outros mamíferos, utilizam latrinas, que são locais onde ocorre a deposição frequente de

fezes e urina, compondo um importante sítio de comunicação e interação social entre os indivíduos (Moreno & Giacalone. 2014; Rodgers et al. 2015; Magalhães 2019). Além da própria espécie, outros animais já foram registrados utilizando e interagindo com latrinas de *Leopardus pardalis*. King et al. (2014), em estudo realizado na Costa Rica, registrou pelo menos 14 espécies de mamíferos visitando as latrinas de *Leopardus pardalis*. As espécies interagiram esfregando corpo e face na latrina, farejando o local e possivelmente ingerindo material ali depositado (King et al. 2014). Na RNV, foi registrada a visitação de latrinas desse felino por 19 espécies de mamíferos que incluem indivíduos das Famílias Felidae (onça-parda), Procyonidae (quati), Mustelidae (irara), Tayassuidae (queixada), Cervidae (veado), Tapiridae (anta), Cuniculidae (paca), Dasyproctidae (cutia), Caviidae (cavivara), Sciuridae (esquilo), Dasypodidae (tatu-galinha), Myrmecophagidae (tamanduá-mirin), Didelphidae (gambá-de-orelha-preta) e Leporidae (tapiti) (Magalhães 2019). Assim, a persistência de partículas virais nas fezes de jaguatirica por um certo período após a ingestão do hospedeiro original permite que *Leopardus pardalis* se torne um possível reservatório viral, atuando como disseminador de partículas virais no ambiente. Isso faz com que as latrinas se tornem importantes fontes de infecção para outras espécies de mamíferos, sobretudo aquelas que interagem diretamente com o conteúdo depositado pelo felino. O mesmo se aplica a outros carnívoros que formam latrinas, incluindo *Panthera onca*.

A predação de primatas por *Leopardus pardalis* já foi relatada para a RNV (Bianchi et al. 2010), ressaltando que na amostra onde foi isolado o “Adenovírus Símio 39” foram detectados restos de *Sapajus robustos* (macaco-prego) (Projeto Felinos, dados não publicados). Isso indica que o vírus isolado pode estar diretamente relacionado à presa ingerida pelo felino, ratificando a hipótese proposta.

Ainda que os achados virais estejam relacionados às presas consumidas pelos felinos, não se deve descartar o eventual risco deste contato para os predadores. Embora eles sejam aparentemente resistentes a microorganismos presentes nas presas, em situações de estresse ambiental ou deficiência nutricional, os quais influenciam a resposta imune (e.g. Klasing 1988; Martin et al. 2008), os predadores poderiam ficar susceptíveis a agentes patológicos associados a todas as espécies de presas ingeridas, podendo este contato representar novos riscos para as populações destes felinos. Adicionalmente, a existência de possíveis eventos de transbordamento viral também alerta para o risco de surgimento de novas doenças em animais doméstico e em humanos na região de estudo, o que se aplica a outras áreas nas

quais o contato entre animais silvestres, domésticos e humanos é frequente devido à inserção dos remanescentes em paisagens antrópicas. Neste contexto, evidencia-se que o comprometimento da saúde dos ecossistemas e seu impacto sobre a saúde animal são fatores de risco também para a saúde humana, sendo necessário garantir que o equilíbrio dos processos ecológicos seja mantido nos ambientes naturais como parte das medidas relacionadas à saúde pública (Aguirre & Tabor 2008; Dhama et al. 2013).

O presente estudo apresenta novas perspectivas sobre a presença de adenovírus em amostras fecais de *Panthera onca* e *Leopardus pardalis*, ressaltando o papel destes predadores, a partir da ingestão de presas portando os vírus, como possíveis dispersores virais, possuindo participação no ciclo ecológico e epidemiológico destes agentes. Isso ressalta a importância e a aplicabilidade destas espécies como animais sentinelas, assumindo relevante participação em programas de vigilância de agentes virais, atuando desta forma como ferramentas de conservação e de investigação da saúde dos ecossistemas e de outras espécies (detecção de vírus circulantes nas comunidades animais). A possibilidade de uso de amostragens não invasivas é um elemento que potencializa a relevância de estudos desta natureza, ressaltando que o trabalho direto por meio da captura de felinos, sobretudo de grande porte, envolve riscos de acidentes, tanto para a equipe envolvida quanto para os indivíduos a serem capturados, além de demandarem o emprego de muitos recursos financeiros e humanos (Caulkett & Shury 2014). A utilização de metodologias não invasivas, como a coleta de fezes, reduz a quase zero o risco de acidentes com humanos e diminui a zero o risco de uma intercorrência anestésica ou efeitos deletérios com o stress da captura para o animal, assim como emprega uma quantidade menor de recursos financeiros a serem gastos com equipamento, logística, manutenção e preparação da equipe durante os dias de planejamento e execução de captura (Rodner & Janecka 2013).

Sugere-se a continuação dos estudos sobre a participação de felinos no ciclo ecológico e epidemiológico dos vírus com o intuito de obter dados mais assertivos quanto à prevalência viral nas espécies estudadas, assim como a necessidade da realização de estudos filogenéticos para melhor caracterização e identificação dos isolados virais, esclarendo a real participação dos carnívoros na manutenção dos ciclos virais associados a interações ecológicas e o seu papel como potenciais reservatórios.

## REFERÊNCIAS

- Abreu K, Moro RR, Silva JP, Miranda J, Jablonski E, Passos F (2008) Feeding habits of ocelot *Leopardus pardalis* in Southern Brazil. *Mammalian Biology* 73:407–411
- Adania CH, Silva JCR, Felipe PAN (2014) Carnívora - Felidae (onça, suçuarana, jaguatirica e gato-do-mato). In: *Tratado de Animais Selvagens: Medicina Veterinária*. Cubas ZS, Silva JCR, Catão-Dias JL (editores). São Paulo: Roca, pp 779–818
- Aguirre AA, Tabor GM (2008) Global factors driving emerging infectious diseases: Impact on wildlife populations. *Animal Biodiversity and Emerging Disease: Annals of the New York Academy of Sciences* 1149:1–3
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM, Sparovek G (2014) Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22:711–728
- Balboni A, Tryland M, Mørk T, Killengreen ST, Fuglei E, Battilani M (2019) Unique genetic features of canine adenovirus type 1 (CAdV-1) infecting red foxes (*Vulpes vulpes*) in northern Norway and arctic foxes (*Vulpes lagopus*) in Svalbard. *Veterinary Research Communications* 43:67–76
- Bamford DH (2003) Do viruses form lineages across different domains of life? *Research in Microbiology* 154(4):231–236
- Benkő M, Harrach B (2003) Molecular evolution of adenoviruses. *Adenoviruses: Model and Vectors in Virus-Host Interactions. Current Topics in Microbiology and Immunology* 252:3–35
- Benson JF, Peter JM TWV, Jeff AS, Paul B, Seth PDR, Holly BE, Walter M Boyce (2019) Extinction Vortex Dynamics of Top Predators Isolated by Urbanization. *Ecological Applications* 29(3):1–14
- Bianchi CAR, Mendes SL, Marco Júnior P (2010) Food habits of the ocelot, *Leopardus pardalis*, in two areas in southeast Brazil. *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 45(3):111–119
- Bodewes R, Ruiz-Gonzalez A, Schapendonk C M, Van BJ, Osterhaus AD, Smits SL (2014) Viral metagenomic analysis of feces of wild small carnivores. *Virology Journal* 11(1):1–13
- Both GW (2002) Identification of a unique family of F-box proteins in adenoviruses. *Virology* 304(2):425–433
- Brandell EE, Cross PC, Smith DW, Rogers W, Galloway NL, MacNulty D, Hudson PJ (2022) Examination of the interaction between age-specific predation and chronic

- disease in the Greater Yellowstone Ecosystem. *Journal of Animal Ecology* *no prelo*:1–12
- Buonavoglia C, Martella V (2007) Canine respiratory viruses. *Veterinary Research* 38(2):355-373
- Burgin CJ, Colella JP, Kahn PL, Upham NS (2018) How many species of mammals are there? *Journal of Mammalogy* 99(1):1–14
- Burkey TV, Reed DH (2006) The effects of habitat fragmentation on extinction risk: Mechanisms and synthesis. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology* 28(1):9–37
- Campbell M (2015) The Factors for the Extinction of Jaguars and Cougars in El Salvador. *Journal of Biodiversity, Bioprospecting and Development* 3(1):1–7
- Caulkett N, Shury T (2014) Human safety during wildlife capture. In: *Zoo Animal and Wildlife Immobilization and Anesthesia*. West G, Heard D, Caulkett N. Iowa: Blackwell Publishing, pp 181–187
- Chaves PB, Graeff VG, Lion MB, Oliveira LR, Eizirik E (2012) DNA barcoding meets molecular scatology: short mtDNA sequences for standardized species assignment of carnivore noninvasive samples. *Molecular Ecology Resources* 12(1):18–35
- Cleaveland S, Mlengeya T, Kaare M, Haydon D, Lembo T, Laurenson MK, Packer C (2007) The Conservation Relevance of Epidemiological Research into Carnivore Viral Diseases in the Serengeti. *Conservation Biology* 21(3):612–622
- Condori, RE, Streicker DG, Cabezas-Sanchez C, Velasco VA (2013) Enzootic and epizootic rabies associated with vampire bats, Peru. *Emerging Infectious Diseases* 19(9):1463–69
- Costa PPL, Bergalho H, Junior VC, Evaldt BHC, Fagundes, V, Kierulff MCM, Leite YIR, Mayorga LFSP, Mendes SL, Moreira DO, Paglia AP, Passamani M, Secco HKC, Srбек-Araujo AC, Siciliano PS, Souza-Lima RS, Tavares VC, Zanin M, Zortéa M (2019) Mamíferos ameaçados de extinção no estado do Espírito Santo. In: *Lista da fauna e flora ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo*. Fraga CN, Peixoto AL, Leite YLR (editores). Santa Teresa: Instituto Nacional da Mata Atlântica, pp 342–419
- Cortes-Hinojosa G, Gulland FM, Goldstein T, Venn-Watson S, Rivera R, Waltzek TB, Salemi M and Wellehan JF Jr (2015) Phylogenomic characterization of California sea lion adenovirus-1. *Infection, Genetics and Evolution* 3:270–276

- Dayaram A, Tsangaras K, Pavulraj S, Azab W, Groenke N, Wibbelt G, Sicks F, Osterrieder N, Greenwood AD (2018) Novel divergent polar bear-associated Mastadenovirus recovered from a deceased juvenile polar bear. *mSphere* 3(4):e00171–18
- Davison AJ, Benkő M, Harrach B (2003) Genetic content and evolution of adenoviruses. *Journal of General Virology* 84:2895–2908
- Dhama K, Chakraborty S, Kapoor S, Tiwari R, Kumar A, Deb R, Natesan S (2013). One World, One Health - Veterinary Perspectives. *Advanced in Animal and Veterinary Science* 1:5–13
- Demeke T, Jenkins GR (2010) Influence of DNA extraction methods, PCR inhibitors and quantification methods on real-time PCR assay of biotechnology-derived traits. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 396(6):1977–1990
- Diffo J, Ndze VN, Ntumvi NF, Takuo JM, Mouiche MMM, Tamoufe U, Nwobegahay J, LeBreton M, Gillis A, Schneider BS (2019) DNA of diverse adenoviruses detected in Cameroonian rodent and shrew species. *Archives of Virology* 164:2359–2366
- Emmons L (1987) Comparative Feeding Ecology of Felids in a Neotropical Rain-Forest. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 20:271–283
- Entringer Júnior H (2019) Variação temporal da dieta de *Panthera onca* em uma remanescente de Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado, Universidade Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. Disponível em: <https://187.12.85.64/handle/123456789/795>
- Estes JA, Terborgh J, Brashares JS, Power ME, Berger J, Bond WJ, Carpenter SR, Essington TE, Holt RD, Jackson JBC, Marquis RJ, Oksanen LOT, Paine RT, Pikitvh EK, Ripple WJ, Sandin AS, Scheffer M, Schoener TW, Shurin JB, Sinclair ARE, Anthony RE, Soulé ME, Virtanen R, Wardle, DA (2011) Trophic downgrading of planet Earth. *Science* 333(6040):301–306
- Faillace CA, Lorusso NS, Duffy S (2017) Overlooking the smallest matter: viruses impact biological invasions. *Ecology Letters* 20(4):524–538
- Field HE (2016) Hendra virus ecology and transmission. *Current Opinion in Virology* 16:120–125
- Filoni C (2006) Exposição de felídeos selvagens a agentes infecciosos selecionados. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10133/tde-26012007-171939/publico/ClaudiaFiloni.pdf>

- Filoni C, Catão-Dias JL, Bay G, Durigon EL, Jorge P, Lutz H, Hofmann-Lehmann R (2006) First evidence of feline Herpesvirus, Calicivirus, Parvovirus, and *Ehrlichia* exposure in Brazilian free-ranging felids. *Journal of Wildlife Diseases* 42(2):470–477
- Filoni C, Catão-Dias JL, Cattori V, Willi B, Meli ML, Corrêa SHR, Marques MC, Adania CH, Silva JCR, Marvulo MFV, Neto JSF, Durigon EL, de Carvalho VM, Coutinho SDA, Lutz H, Hofmann-Lehmann R (2012) Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 24(1):166–173
- Flint SJ, Racaniello VR, Rall GF, Skalka AM, Enquist LW (2015) Mechanisms of Pathogenesis. In: *Principles of Virology*. Flint SJ, Racaniello VR, Rall GF, Skalka AM, Enquist LW. Washington: ASM Press, pp 134–173
- Froelich K (2000) Viral diseases of northern ungulates. *Rangifer* 20(2-3): 83–97
- Funk SM, Fiorello CV, Cleaveland S, Gompper ME (2001) The role of disease in carnivore ecology and conservation. In: *Carnivore Conservation*. Gittleman JL, Funk SM, MacDonald DW, Wayne RK (editores). Cambridge: Cambridge University Press, pp 443–466
- Furtado MM, Filoni C (2008) The Jaguar in Brazil: Diseases and Their Role for Jaguar Conservation. *Cat News Special Issue* 4:35–40
- Furtado MM, Filho JDR, KC, Coelho CJ, Cruz OS, Ikuta CY, Jácomo ATA, Porfírio GEO, Silveira L, Sollmann R, Tôrres NM, Neto JSF (2013) Serosurvey for selected viral infections in free-ranging jaguars (*Panthera onca*) and domestic carnivores in Brazilian Cerrado, Pantanal, and Amazonia. *Journal of Wildlife Diseases* 49(3):510–521
- Galetti HC, Giacomini RS, Bueno CSS, Bernardo RM, Marques RS, Bovendorp CE, Steffler P, Rubim SK, Gobbo CI, Donatti RA, Begotti F, Meirelles RD, Nobre AG, Chiarello CA (2009) Priority areas for the conservation of Atlantic Forest large mammals. *Biological Conservation* 142:1229–124
- Goossens B, Lynn SM (2013) Advances and difficulties of molecular tools for carnivore conservation in the tropics. *Raffles Bulletin of Zoology* 28:48–53
- Gordon YJ, Gordon RY, Romanowski E, Araullo-Cruz TP (1993) Prolonged recovery of desiccated adenoviral serotypes 5, 8, and 19 from plastic and metal surfaces in vitro. *Ophthalmology* 100:1835–1840

- Graves V, Tirelli F, Horn P, Resende L, Bolze G, Dutra J, Fonseca C, Pereira, MJ (2021) Impact of anthropogenic factors on occupancy and abundance of carnivorans in the Austral Atlantic forest. *Journal for Nature Conservation* 59:125951
- Haag T, Santos AS, Sana DA, Morato RG, Cullen Jr L, Crawshaw JrPG, Eizirik E (2010) The effect of habitat fragmentation on the genetic structure of a top predator: loss of diversity and high differentiation among remnant populations of Atlantic Forest jaguars (*Panthera onca*). *Molecular Ecology* 19(22):4906–4921
- Harrach B, Tarján Z L, Benkő M (2019) Adenoviruses across the animal kingdom: a walk in the zoo. *FEBS Letters* 593(24):3660–3673
- Hayward MW, Kamler JF, Montgomery RA, Newlove A, Rostro-García S, Sales LP, Van Valkenburgh B (2016) Prey preferences of the jaguar *Panthera onca* reflect the Post-Pleistocene demise of large prey. *Frontiers in Ecology and Evolution* 3:1–19
- Islam MS, Sazzad HM, Satter SM, Sultana S, Hossain MJ, Hasan M, RahmanM, Campbell S, Cannon DL, Ströher U, Daszak P (2016) Nipah virus transmission from bats to humans associated with drinking traditional liquor made from date palm sap, Bangladesh, 2011–2014. *Emerging Infectious Diseases* 22(4):664–670
- Jorge RSP, Pereira MS, Morato RG, Scheffer KC, Carnieli P, Ferreira F, Furtado MM, Kashivakura CK, Silveira L, Jacomo ATA, Lima ES, Paula RC, May-Junior JA (2010) Detection of Rabies Virus Antibodies in Brazilian Free-Ranging Wild Carnivores. *Journal of Wildlife Diseases* 46(4):1310–1315
- Jorge MLSP, Galetti M, Ribeiro MC, Ferraz KMPMB (2013) Mammal defaunation as surrogate of trophic cascades in a biodiversity hotspot. *Biological Conservation* 163:49–57
- Kajan GL, Doszpoly A, Tarjan ZL, Vidovszky M, Papp T (2019) Virus-host coevolution with a focus on animal and human DNA viruses. *Journal of Molecular Evolution* 88:41–56
- Kierulff MCM, Avelar LHS, Ferreira MES, Pova K F, Bérnils RS (2014) Reserva Natural Vale: História e aspectos físicos. *Ciência & Ambiente* 49:7–40
- King TW, Salom-Pérez R, Shipley LA, Quigley H B, Thornton DH (2017) Ocelot latrines: communication centers for Neotropical mammals. *Journal of Mammalogy* 98(1):106–113
- Kitchener A C, Breitenmoser-Würsten CH, Eizirik E, Gentry A, Werdelin L, Wilting A, Yamaguchi N, Abramov A. V, Christiansen P, Driscoll C, Duckworth J W, Johnson



- W, Luo S-J, Meijaard E, O'Donoghue P, Sanderson J, Seymour K, Bruford M, Groves C, Hoffmann M, Nowell K, Timmons Z, Tobe S (2017) A revised taxonomy of the Felidae: The final report of the Cat Classification Task Force of the IUCN/SSC Cat Specialist Group. *Cat News Special Issue* 11:3–79
- Klasing KC (1998) Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Science* 77:1119–1125
- Li L, Victoria JG, Wang C, Jones M, Fellers GM, Kunz TH, Delwart E (2010) Bat Guano Virome: Predominance of Dietary Viruses from Insects and Plants plus Novel Mammalian Viruses. *Journal of Virology* 84(14):6955–6965
- Luis AD, Hayman DT, O'Shea TJ, Cryan P M, Gilbert AT, Pulliam JR, Webb C T (2013) A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proceedings of the Royal Society B. Biological Sciences* 280(1756):20122753
- Magalhães LM (2019) Uso de latrinas por jaguatirica (*Leopardus pardalis*) em um remanescente de Mata Atlântica no sudeste do Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Vila Velha, Espírito Santo, Brasil. Disponível em: <https://repositorio.uvv.br/handle/123456789/722>
- Martin LB, Weil ZM, Nelson RJ (2008) Seasonal changes in vertebrate immune activity:mediation by physiological trade-offs. *Philosophical Transactions of the Royal Society B - Biological Sciences* 363:321–339
- Mattner F, Sykora KW, Meissner B, Heim A (2008) An adenovirus type F41 outbreak in a pediatric bone marrow transplant unit: analysis of clinical impact and preventive strategies. *Pediatr Infect Dis J The Pediatric Infectious Disease Journal* 27:419–424
- Medellin RA, Chetkiewicz C, Rabinowitz A, Redford K H, Robinson JG, Sanderson E, Taber A (2002) El jaguar en el nuevo milenio: una evaluacion de su estado, deteccion de prioridades y recomendaciones para la conservacion de los Jaguares en America. Mexico: Universidad Nacional Autonoma de Mexico, Wildlife Conservation Society, pp 647
- Meyer EM, Meza AV, Gonzalez CAL (2002) Ocelot (*Leopardus pardalis*) food habits in a tropical deciduous forest of Jalisco, Mexico. *The American Midland Naturalist* 148(1):146–154
- Morato RG, Beisiegel BM, Ramalho EE, Campos CB, Boulhosa RLP (2018) *Panthera onca* (Linnaeus, 1758). In: Livro Vermelho da fauna Brasileira Ameaçada de Extinção. Brasília: ICMBio/MMA, pp 492

- Moreno R, Giacalone J (2006) Dados ecológicos obtidos do uso de latrinas por jaguatiricas (*Leopardus pardalis*) na Ilha Barro Colorado, Panamá. *Technoscience* 8(1):7–21
- Murray JL, Gardner GL (1997) *Leopardus pardalis*. *Mammalian Species* 548:1-10.
- Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ (1999) Mechanism of infection and viral spread through the body. In: *Veterinary Virology*. Murphy FA, Gibbs EPJ, Horzinek MC, Studdert MJ. San Diego: Academic Press, pp 93–1109.
- Nava, AFD, Cullen Jr L, Sana DA, Nardi MS, Ramos Filho JD, Lima TF, Abreu KC, Ferreira F (2008) First Evidence of Canine Distemper in Brazilian Free-Ranging Felids. *EcoHealth* 5(4):513–518
- Nsubuga AM, Robbins MM, Roeder AD, Morin PA, Boesch C, Vigilant L (2004) Factors affecting the amount of genomic DNA extracted from ape faeces and the identification of an improved sample storage method. *Molecular Ecology* 13(7):2089–2094.
- Oleaga A, Balseiro, A, Espí A, Royo LJ (2022) Wolf (*Canis lupus*) as canine adenovirus type 1 (CAdV-1) sentinel for the endangered cantabrian brown bear (*Ursus arctos arctos*). *Transboundary and Emerging Diseases* 69(2):516–523
- Oliveira TG, Almeida LB, Campos CB (2013) Avaliação do risco de extinção da Jaguatirica *Leopardus pardalis* (Linnaeus, 1758) no Brasil. *Biodiversidade Brasileira* 3:66–74
- Olsoy PJ, Zeller KA, Hicke JA, Quigley HB, Rabinowitz AR, Thornton DH (2016) Quantifying the effects of deforestation and fragmentation on a range-wide Conservation plan for Jaguars. *Biological Conservation* 203:8–16
- Ogorzaly L, Bertrand I, Paris M, Maul A, Gantzer C (2010) Occurrence, survival, and persistence of human adenoviruses and F-specific RNA phages in raw groundwater. *Applied and Environmental Microbiology* 76(24):8019–8025
- Packer C, Holt RD, Hudson PJ, Lafferty KD, Dobson AP (2003) Keeping the herds healthy and alert: implications of predator control for infectious disease. *Ecology Letters* 6(9):797–802
- Paviolo A, Crawshaw P, Caso A, de Oliveira T, Lopez-Gonzalez CA, Kelly M, De Angelo C, Payan E (2015) *Leopardus pardalis*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T11509A97212355
- Peixoto AL, Silva IM, Pereira OJ, Simonelli M, De Jesus RM, Rolim SG (2008) Tabuleiro Forests North of the Rio Doce: their representation in the Vale do Rio

- Doce Natural Reserve, Espírito Santo, Brazil. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 100:369–372
- Pires MM, Widmer CE, Silva, C, Setz, EZ (2011) Differential detectability of rodents and birds in scats of ocelots, *Leopardus pardalis* (Mammalia: Felidae). *Zoologia* 28:280–283
- Podgorski II, Pantó L, Foldes K, Winter I, Jánoska MSE, Chenet B, Harrach B, Benko M (2018) Adenoviruses of the most ancient primate lineages support the theory on virus-host co-evolution. *Acta Veterinaria Hungarica* 66:474–487
- Quadros J, Monteiro-Filho ELA. (2006) Revisão conceitual, padrões microestruturais e proposta nomenclatória para os pêlos-guarda de mamíferos brasileiros. *Revista Brasileira de Zoologia* 23:279–292
- Quigley H, Foster R, Petracca L, Payan E, Salom R, Harmsen B (2017) *Panthera onca* (errata version published in 2018). The IUCN Red List of Threatened Species: e.T15953A123791436
- Ridpath JF, Neill JD, Palmer MV, Bauermann FV, Falkenberg SM, Wolff PL (2017) Isolation and characterization of a novel cervid adenovirus from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) fawns in a captive herd. *Virus Research* 238:198–203
- Ripple WJ, Ester JA, Beschta RL, Wilmers CC, Rithie EG, Hebblewhite M, Berger J, Elmhagen B, Letnic M, Nelson MP, Schmitz O, Wallach AD, Wirsing AJ (2014) Status and ecological effects of the world's largest carnivores. *Science* 343(6167):1–11
- Rodgers TW, Janečka JE (2013) Applications and techniques for non-invasive faecal genetics research in felid conservation. *European Journal of Wildlife Research* 59(1): 1–16.
- Rodgers TW, Giacalone J, Heske EJ, Pawlikowski NC, Schooley RL (2015) Communal latrines act as potentially important communication centers in ocelots *Leopardus pardalis*. *Mammalian Biology* 80(5):380–384
- Runde V, Ross S, Trenschele R, Lagemann E, Basu O, Renzing-Köhler K, Schaefer UW, Roggendorf M, Holler E (2001) Adenoviral infection after allogeneic stem cell transplantation (SCT): report on 130 patients from a single SCT unit involved in a prospective multi center surveillance study. *Bone Marrow Transplant* 28:51–57
- Salzmann E, Müller E, Marschang RE (2021) Detection of Testadenoviruses and Atadenoviruses in Tortoises and Turtles in Europe. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 52:223–231
- Seymour KL (1989) *Panthera onca*. *Mammalian Species* 340:1–9

- Shi HF, Zhu YM, Yan H, Ma L, Wang XZ, Xue F (2014) Pathogenesis of a Chinese strain of bovine adenovirus type 3 infection in albino guinea pigs. *Archives of virology* 159(12):3211–3218
- Sibley SD, Goldberg TL, Pedersen JA (2011) Detection of known and novel adenoviruses in cattle wastes via broad-spectrum primers. *Applied and Environmental Microbiology* 77(14):5001–5008
- Sittenthaler M, Schöll EM, Leeb C, Haring E, Parz-Gollner R, Hackländer K (2021) Factors influencing genotyping success and genotyping error rate of Eurasian otter (*Lutra lutra*) faeces collected in temperate Central Europe. *European Journal of Wildlife Research* 67(1):1–13
- Srbek-Araujo, AC, Chiarello AG (2017) Population status of the jaguar *Panthera onca* in one of its last strongholds in the Atlantic Forest. *Oryx* 51(2):246–253
- Staden R, Beal K, Bonfield J (2000) The Staden package. *Methods Molecular Biology* 132:115–130
- Terio KA, Craft ME (2013) Canine distemper virus (CDV) in another big cat: should CDV be renamed carnivore distemper virus? *mBio* 4(5):e00702-13
- Thompson KG, Thomson GW, Henry JN (1981) Alimentary tract manifestations of bovine adenovirus infections. *The Canadian Veterinary Journal* 22(3):68–71
- Vogels R, Zuijdgeest D, Van Rijnsoever R, Hartkoorn E, Damen I, De Bethune MO, Koudstaal W, Cecchini M, Wetterwald A, Sprangers M, Lemckert A, Ophorst O, Koel B, Van Meerendonk M, Quax P, Panitti L, Grimbergen J, Bout A, Goudsmit J, Havenga M (2003) Replication-deficient human adenovirus type 35 vectors for gene transfer and vaccination: efficient human cell infection and bypass of preexisting adenovirus immunity. *Journal of Virology* 77:8263–8271
- Xie XT, Kropinski AM, Tapscott B, Weese JS, Turner PV (2019) Prevalence of fecal viruses and bacteriophage in Canadian farmed mink (*Neovison vison*). *Microbiologyopen* 8(1):e00622
- Wang, LF, Anderson DE (2019) Viruses in bats and potential spillover to animals and humans. *Current Opinion in Virology* 34:79–89
- Wellehan JF, Johnson AJ, Harrach B, Benko M, Pessier AP, Johnson CM, Garner MM, Childress A, Jacobson E (2004) Detection and analysis of six lizard adenoviruses by consensus primer PCR provides further evidence of a reptilian origin for the atadenoviruses. *Journal of Virology* 78:13366–13369
- Woods LM (2001) Adenoviral diseases. In: *Infectious diseases of wild mammals*. Williams ES., Barker I. (editores). Ames: Iowa State University Press, pp 202–213

- Wu Z, Yang L, Ren X, He G, Zhang J, Yang J, Jin Q (2016) Deciphering the bat virome catalog to better understand the ecological diversity of bat viruses and the bat origin of emerging infectious diseases. *The ISME Journal* 10(3):609-620
- Yokoi K, Okazaki H, Inahara K, Hatama S (2009) Prevalence of eight bovine viruses in sika deer (*Cervus nippon yesoensis*) in Japan. *The Veterinary Record* 165(25):754–755
- Zhou P, Fan H, Lan T, Yang, XL, Shi WF, Zhang W, Ma J Y (2018) Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature* 556(7700):255–258