

## "LACAZIOSIS-LIKE DISEASE" EM *TURSIOPS TRUNCATUS* DA COSTA BRASILEIRA: UMA ABORDAGEM HISTOPATOLOGICA E IMUNOISTOQUÍMICA

SACRISTÁN, CARLOS 1\*; RÉSSIO, RODRIGO ALBERGARIA 2; CASTILHO, PEDRO 3; FERNANDES, NATÁLIA COELHO COUTO DE AZEVEDO 2; COSTA-SILVA, SAMIRA 1; ESPERÓN, FERNANDO 4; DAURA-JORGE, FÁBIO GONÇALVES 5; GROCH, KÁTIA R. 1; KOLESNIKOVAS, CRISTIANE K. M. 6; MARIGO, JULIANA 1; OTT, PAULO HENRIQUE 7,8; OLIVEIRA, LARISSA ROSA DE 7,9; SÁNCHEZ-SARMIENTO, ANGÉLICA MARÍA 1, SIMÕES-LOPES, PAULO C. 5; CATÃO-DIAS, JOSÉ LUIZ 1.

1 Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; Universidade de São Paulo, SP, Brasil;

2 Instituto Adolfo Lutz, Brasil;

3 Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade do Estado de Santa Catarina, Brasil;

4 Grupo de Epidemiología y Sanidad Ambiental, Centro de Investigación em Sanidad Animal (INIA-CISA), Espanha;

5 Departamento de Ecologia e Zoologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil;

6 Associação R3 Animal, Brasil;

7 Grupo de Estudos de Mamíferos Aquáticos do Rio Grande do Sul – GEMARS, Brasil;

8 Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS), Brasil;

9 Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS, Brasil.

Email: carlosvet.sac@gmail.com

**Introdução e objetivos:** A lacaziosis-like disease ou lobomycosis-likedisease (LLD) dos cetáceos é uma doença cutânea crônica causada por leveduras não cultiváveis da ordem Onygenales (1,2), que também inclui Lacazia loboi, assim como Paracoccidioides brasiliensis e P. lutzi, responsáveis

respectivamente pela lacaziose e paracoccidioidomicose em humanos (3,4,5,6). A completa identificação e classificação filogenética do agente etiológico da LLD ainda precisam ser elucidadas, mas análises preliminares filogenéticas evidenciaram maior proximidade entre o agente da LLD e Paracoccidioides spp., do que à L. loboi (7,8,9). Vários casos sugestivos de LLD têm sido comunicados em pequenos cetáceos da América do Sul, segundo identificação fotográfica (10,11,12), mas existem apenas três casos com confirmação histopatológica (13,14,15). O presente trabalho detectou o agente causador de LLD no sul do Brasil e o caracterizou com o emprego métodos histopatológicos e imunoistoquímicos. **Material e Métodos:** Foram avaliadas múltiplas amostras teciduais de quatro golfinhos-nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) enalhados nos Estados de Santa Catarina (n=3) e Rio Grande do Sul (n=1), sul do Brasil. Este último indivíduo já havia sido diagnosticado anteriormente com base em avaliação histopatológica (15). As colorações de hematoxilina-eosina, ácido periódico Schiff, Grocott metaminado de prata e mucicarmin de Mayer foram utilizadas no exame histopatológico. A imuno-histoquímica (IHQ) foi realizada por meio do emprego de anticorpo primário frente à glicoproteína gp43 de *P. brasiliensis*, conhecido por apresentar reação cruzada com *L. loboi* e com o agente da LLD (9). **Resultados e Discussão:** Macroscopicamente, todos os animais apresentavam lesões compatíveis com LLD. Microscopicamente, numerosas leveduras refratárias (4-9 µm de diâmetro) foram observadas nas amostras de pele (4/4) e, pela primeira vez em golfinhos, em um abscesso em musculatura esquelética (1/4), marcando positivo na IHQ.

Os achados microscópicos são compatíveis com as descrições histológicas prévias de LLD em cetáceos (1,16). A presença de leveduras em um abscesso na muscular nunca havia sido descrita em golfinhos, e pode ser um indicativo da capacidade invasiva deste agente.

Os resultados imunoistoquímicos são similares ao observados em *T. truncatus* no Japão por Ueda et al. (2013). Esta é a primeira vez que a IHQ é realizada em animais com lesão compatível com LLD nas Américas.

**Tabela 1** - Segundo a identificação, data e local do enalhe na costa brasileira, sexo e tamanho dos exemplares de estudados.

Identificação	Data	Local	Sexo	Comprimento Total (cm)
MM625	21 Outubro 2014	Baía Sul, Florianópolis, SC (-27,61535 S/ -48,62545 O)	Macho	317
MM626	30 Outubro 2013	Estuário de Laguna, SC (-28,39662 S/ -48,88642 O)	Macho	301
MM509	04 Outubro 2011	Florianópolis, SC (-27,57185 S/ -48,42609 O)	Macho	320
GEMARS 1259	03 Novembro 2005*	Estuário de Tramandaí, RS (-29,98226 S/ -50,13507 O)	Macho	339

\* Último animal previamente diagnosticado com LLD (15).

Identificação	Localização lesões	Descrição histopatológica
MM509	Parte medial do corpo, pedúnculo e cauda.	Dermatite perivascular granulocítica difusa, acantose, áreas focais de atrofia da derme e presença multifocal de leveduras, células polimorfonucleares e células gigantes. Abscesso muscular contendo abundantes leveduras e células polimorfonucleares.
MM625	Mandíbula, proximidades da nadadeira peitoral, pedúnculo e cauda.	Dermatite perivascular, infiltrado misto, acantose. Presença multifocal de leveduras e células gigantes.
MM626	Parte medial do corpo.	Presença de numerosas leveduras. Ausência decélulas inflamatórias. Perda da epiderme.

**Tabela 2.** Localização e achados histopatológicos dos novos casos de lacaziosis-like disease (LLD) diagnosticados em espécimens de *Tursiops truncatus* enalhados na costa brasileira.

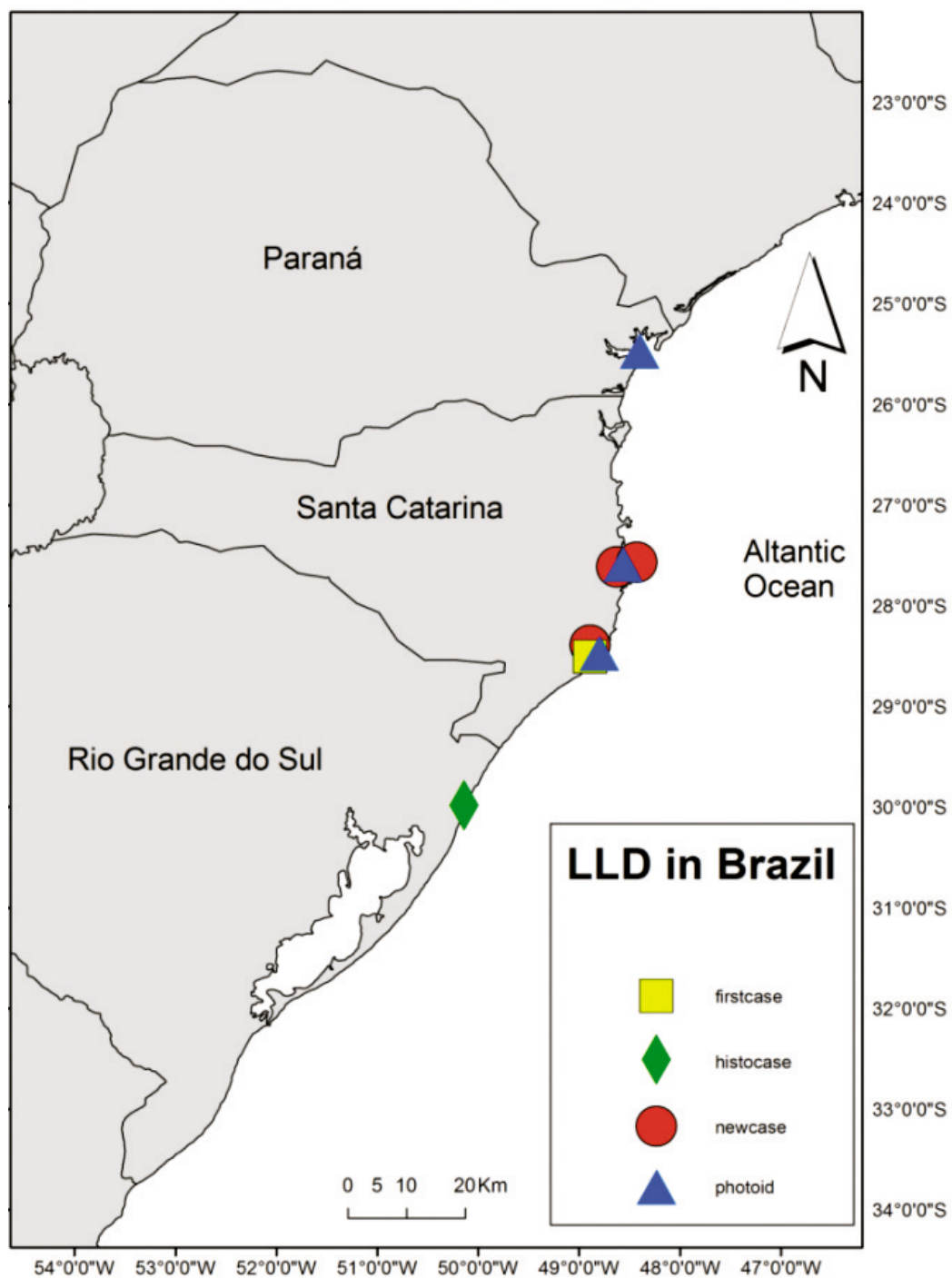
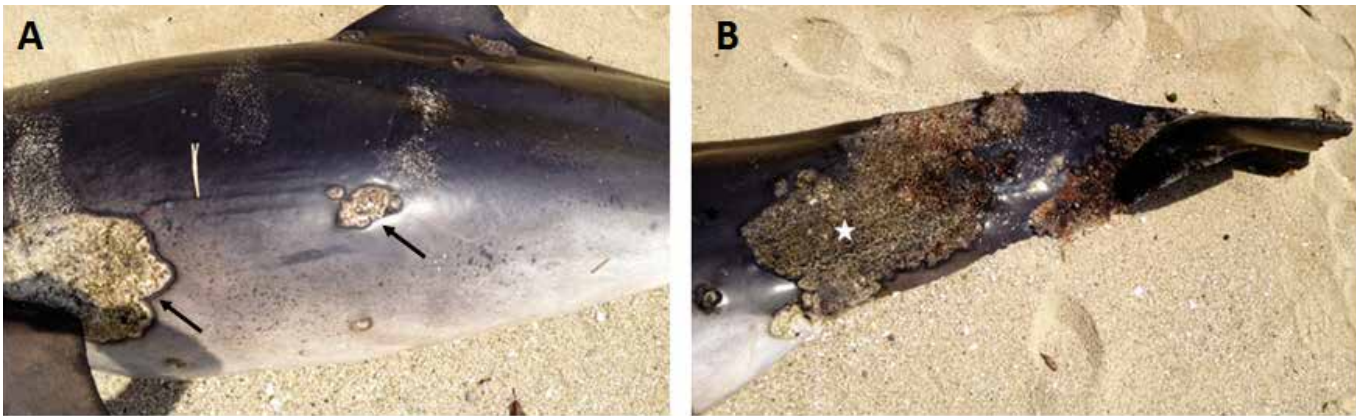
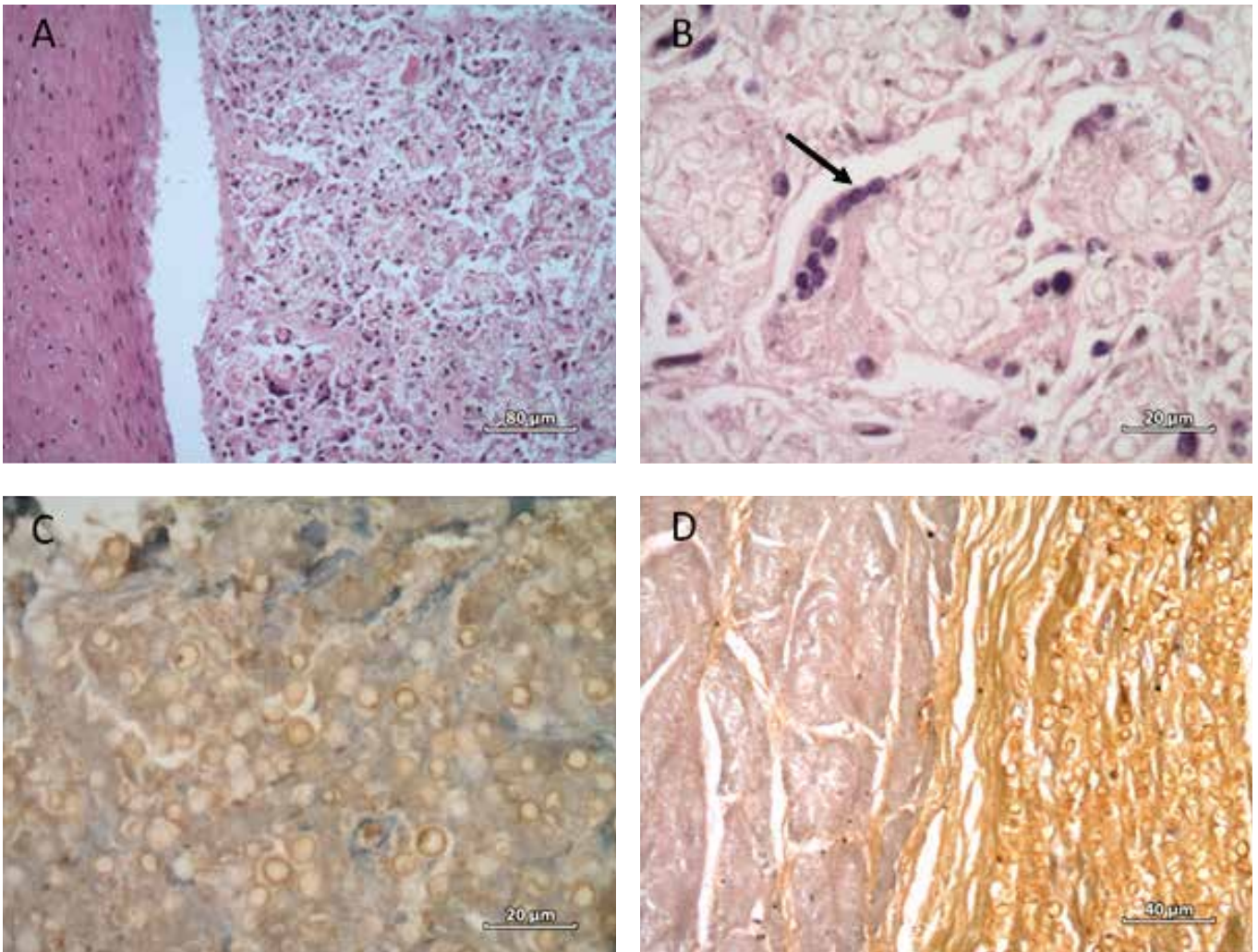


Figura 1 - Casos de lacaziosis-like disease (LLD) em espécimes de *Tursiops truncatus* no Brasil: quadrado: primeiro caso conhecido; triângulo: casos diagnosticados por foto-identificação; losango: casos antigos confirmados por histopatologia; círculo: novos casos.



**Figura 2** - Lesões cutâneas decorrentes de lacaziosis-like disease (LLD) no corpo (seta) (A) e pedúnculo (estrela) (B) do indivíduo MM625.



**Figura 3** - A) MM625, Pele. Lesões granulomatosas em epiderme (escala 80 µm); B) MM625, Pele. Células gigantes contendo leveduras (seta) (escala 20 µm); C) MM625, Pele. Leveduras esféricas marcadas positivamente por reação imuno-histoquímica (escala 20 µm); D) MM509, Músculo. Presença de leveduras em abscesso, coradas com GMS (escala 40 µm).

**Conclusões:** Neste estudo diagnosticamos três novos casos de LLD em *T. truncatus* mediante histopatologia, e pela primeira vez nas Américas, a IHQ foi utilizada para caracterizar os quatro casos descritos. Este estudo descreve o primeiro caso de LLD em musculatura esquelética de cetáceos. Pesquisas adicionais são necessárias para estabelecer a taxonomia do agente de LLD em cetáceos. **Apoio financeiro:** Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP- 2010/51801-5), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Santa Catarina (FAPESC- nº 2913TR 003469 e nº 2015TR 000286).

## Referências

- 1 MIGAKI, G. et al. Lobo's disease in an Atlantic bottle-nosed dolphin. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Ithaca, v. 159, n. 5, p. 578-582, Sept. 1971.
- 2 BOSSART, G. D. Emerging diseases in marine mammals: from dolphins to manatees. *Microbe. Mag.*, v. 2, n. 11, p. 544-549, Nov. 2007.
- 3 TABORDA, P. R.; TABORDA, V. A.; MCGINNIS, M. R. *Lacazia loboi* gen. nov., comb. nov., The etiologic agent of lobomycosis. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v. 37, n. 6, p. 2031-2033, Jun. 1999.
- 4 HERR, R. A. et al. Phylogenetic analysis of *Lacazia loboi* places this previously uncharacterized pathogen within the dimorphic Onygenales. *J. Clin. Microbiol.*, Washington, v. 39, n. 1, p. 309-314, Jan. 2001.
- 5 AL-DARAJI, W. I.; HUSAIN, E.; ROBSON, A. Lobomycosis in African patients. *Br. J. Dermatol.*, Oxford, v. 159, n. , p. 234-236, July, 2008.
- 6 TEIXEIRA, M. M. et al. *Paracoccidioides lutzii* sp. biological and clinical implications. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 52, n. 1, p. 19-28, Jan. 2014.
- 7 ROTSTEIN, D. S. et al. Lobomycosis in offshore bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*), North Carolina. *Emerg. Infect. Dis.*, Atlanta, v. 15, n. 4, p. 588-590, Apr. 2009.
- 8 ESPERÓN, F. et al. Molecular diagnosis of lobomycosis-like disease in a bottlenose dolphin in captivity. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 50, n. 1, p. 106-109, Jan. 2012.
- 9 UEDA, K. et al. Two cases of lacaziosis in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Japan. *Case Reports Vet. Med.*, p. 1-9, 2013.
- 10 FLORES, P. et al. Evidência de residência individual e ocorrência de lesões epidérmicas em golfinhos *Tursiops truncatus* na Baía Norte, SC, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MASTOZOLOGIA, 3., Aracruz, 2005. Anais... Aracruz: [s.n.], 2005. p. 87.
- 11 VAN BRESSEM, M. E.; SANTOS, M. C. D. O.; OSHIMA, J. E. D. F. Skin diseases in Guiana dolphins (*Sotalia aguianensis*) from the Paranaguá estuary, Brazil: a possible indicator of a compromised marine environment. *Mar. Environ. Res.*, v. 67, n. 2, p. 63-68, Mar. 2009.
- 12 DAURA-JORGE, F. G.; SIMÕES-LOPES, P. C. Lobomycosis-like disease in wild bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* of Laguna, Southern Brazil: monitoring of a progressive case. *Dis. Aquat. Organ.*, Oldendorf/Luhe, v. 93, n. 2, p. 163-170, Jan. 2011.
- 13 VRIES, G.; LAARMAN, J. A case of Lobo's disease in the dolphin *Sotalia guianensis*. *Aquat. Mamm.*, v. 3, p. 26-33, 1973.
- 14 SIMÕES-LOPES, P. C. et al. First case of lobomycosis in a bottlenose dolphin from Southern Brazil. *Mar. Mammal. Sci.*, v. 9, n. 3, p. 329-331, July 1993.
- 15 MORENO, I. B. et al. Mycotic Dermatitis in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Southern Brazil, with a confirmed record of lobomycosis disease. In: INTERNATIONAL WHALING COMMISSION, WORKSHOP ON CETACEAN SKIN DISEASES, Cambridge, 2008. Anais... 2008. Cambridge: [s.n.], 2008. p. 1-11.
- 16 HAUBOLD, E. M. et al. Comparative morphology of *Lacazia loboi* (syn. *Loboa loboi*) in dolphins and humans. *Med. Mycol.*, Oxford, v. 38, n. 1, p. 9-14, Feb. 2000.