

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ASPECTOS PATOLÓGICOS E MOLECULARES EM BALEIA-JUBARTE
(*MEGAPTERA NOVAEANGLIAE*) E LOBO-MARINHO-SUL-AMERICANO
(*ARCTOCEPHALUS AUSTRALIS*) NO SUL DO BRASIL**

Derek Blaes de Amorim

PORTO ALEGRE

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ASPECTOS PATOLÓGICOS E MOLECULARES EM BALEIA-JUBARTE
(*MEGAPTERA NOVAEANGLIAE*) E LOBO-MARINHO-SUL-AMERICANO
(*ARCTOCEPHALUS AUSTRALIS*) NO SUL DO BRASIL**

Autor: Derek Blaese de Amorim

Tese apresentada como requisito parcial para obtenção de grau de Doutor em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul na área de Medicina Veterinária Preventiva e Patologia: Animal e Patologia Clínica.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Sonne

Coorientador: Prof. Dr. João Fábio Soares

PORTO ALEGRE

2023

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

CIP – CATALOGAÇÃO

CIP - Catalogação na Publicação

Blaese De Amorim, Derek
Aspectos patológicos e moleculares em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) no Sul do Brasil. / Derek Blaese De Amorim. -- 2023. 37 f.
Orientadora: Luciana Sonne.

Coorientador: João Fábio Soares.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. mamíferos marinhos . 2. linfoma. 3. morbilivirus. 4. parasito hepático. 5. baleia-jubarte. I. Sonne, Luciana, orient. II. Soares, João Fábio, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Derek Blaese de Amorim

Aspectos patológicos e moleculares em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) e lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) no Sul do Brasil.

Aprovado em 17 de março de 2023

Aprovado por:

Profa. Dra. Luciana Sonne

Orientadora e Presidente da Comissão

Prof. Dr. Cláudio Wageck Canal

Membro da Comissão

Dra. Cristiane Kiyomi Miyaji Kolesnikovas

Membro da Comissão

Dr. Max Rondon Werneck

Membro da Comissão

Aos profissionais
que se dedicam à vida
silvestre, principalmente aos
profissionais “gigantes”.

AGRADECIMENTOS

Sinto-me agraciado por ter cursado o doutorado no Setor de Patologia Veterinária (SPV) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Agradeço aos professores do setor, David Driemeyer, Luciana Sonne, Saulo Pavarini e Welden Panziera, às técnicas Cíntia, Marcele e Bárbara, e aos amigos e colegas do laboratório pela convivência, acolhimento e pelo tanto de conhecimento compartilhado. Um agradecimento especial à Paula Reis Ribeiro, ao Matheus Bianchi, à Joanna Echenique, à Manuela Piva, ao Claiton Schwertz e ao Ronaldo Bianchi.

Agradecimento especial à minha orientadora, professora Luciana Sonne, por quem tenho grande admiração, tanto pessoal quanto profissionalmente. A ótima relação que construímos durante esse período seguramente oportunizou que este trabalho singular fosse desenvolvido da melhor forma possível. Muito obrigado pelas conversas, pelos ensinamentos e pela pronta disponibilidade, mesmo quando isso significava sair com o próprio carro para a necropsia de uma baleia em uma praia erma no litoral gaúcho. Ao meu coorientador, João Fábio Soares, por ter aberto as portas do Laboratório de Protozoologia e Rickettsioses Vetoriais e pelos trabalhos que desenvolvemos, que estamos desenvolvendo e que desenvolveremos. Obrigado pelas conversas e pelo conhecimento compartilhado. Sorte a minha ter vocês, Lu e João, como orientadores nesta caminhada!

Agradeço ao Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos, o CECLIMAR/UFRGS, órgão no qual estou lotado, do qual sempre tive apoio durante todo o período do doutorado. Enéas Konzen, Cacinele Rocha, Janaína Wickert e Cássia Spacsek: meu agradecimento especial a vocês. À equipe do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres e Marinhos (CERAM): servidores, estagiários, estagiárias e equipe terceirizada (Nathan e Wagner). Este trabalho pôde ser realizado porque a equipe do CERAM é composta por vocês. Em especial, agradeço à Rutinha e ao Cláudio, os quais coordenaram as atividades do centro nos momentos em que me encontrava ausente devido ao doutorado. Ao Maurício Tavares e ao Gustavo Leivas, pelo auxílio na realização das atividades do CERAM. Ao professor Marcelo Alievi e à equipe do PRESERVAS pelo suporte técnico, especialmente à Vicky e à Jacque.

Agradeço aos tantos profissionais e instituições envolvidas nas necropsias (e todo o processo envolvido para a realização) dos espécimes dos quais foram coletadas informações para o desenvolvimento deste trabalho, em especial à Área de Preservação Ambiental da Baleia Franca, Santa Catarina.

Agradeço ao professor Estevam Lux Hoppe e ao Laboratório de Doenças Parasitárias, da Universidade Estadual de São Paulo, pela parceria no desenvolvimento deste trabalho. Ao Laboratório de Protozoologia e Rickettsioses Vetoriais da UFRGS, coordenado pelo João Fábio, pela parceria no desenvolvimento deste trabalho, em especial à Renata Fagundes, Laura Berger Nunes, Vinícius Baggio e Rafaela Bohn. Ao professor Cláudio Canal e ao Laboratório de Virologia Veterinária, pela parceria no desenvolvimento deste trabalho, em especial à Laura Junqueira de Camargo e Renata Budaszewski, pela parceria e pelas discussões.

À minha família - mãe, pai e manas - obrigado pelo apoio e pelas palavras de incentivo. À Meg Zila. Aos amigos da Horda, vocês são parte disso. Aos amigos e às amigas, obrigado.

“Gracias a la vida que me ha dado tanto” Mercedes Sosa

“Somos comparáveis a anões encavalitados sobre os ombros de gigantes: vemos, portanto, mais coisas do que eles viram e vemos mais longe do que eles. Qual a razão disto? Não é nem a acuidade do nosso olhar, nem a superioridade da nossa altura, mas porque somos transportados e elevados pela alta estatura dos gigantes”

Bernard de Chartre

RESUMO

Nesta tese estão incluídos três artigos: o primeiro é o relato de caso de linfoma linfocítico de pequenas células B (SLL-B) em um macho adulto de lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) no estado do Rio Grande do Sul (RS). Na necropsia, o espécime apresentou mucosa pálida, estado corporal ruim e aumento significativo e generalizado dos linfonodos, além de nódulos tumorais multifocais brancos e branco-amarelados acometendo rins, intestino delgado, linfonodos e baço, além do aumento deste. Na histologia, havia proliferação neoplásica de linfócitos pequenos disposto em manto, pobremente delimitada e não encapsulada, com baixa atividade mitótica e moderadas anisocitose e anisocariose. Na técnica de imuno-histoquímica (IHQ), a neoplasia exibiu difusa e acentuada imunomarcagem para os anticorpos CD79 α e CD20 nos linfócitos neoplásicos e imunomarcagem negativa para CD3. Assim, o diagnóstico SLL-B foi estabelecido. Os demais artigos versam sobre três baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) que encalharam vivas no RS e Santa Catarina em 2021 e 2022. O segundo artigo é sobre a caracterização de infecção por *Brachycladium goliath* nas três baleias-jubarte. Durante as necropsias, foram observadas áreas multifocais esbranquiçadas, firmes e irregulares na cápsula hepática e atrofia moderada do lobo hepático em um dos casos. Ao corte, havia evidencição, proliferação e dilatação de ductos biliares, coloração amarelada do parênquima e áreas multifocais esbranquiçadas e firmes. Digenéticos encontrados nos ductos foram enviados para identificação morfológica e molecular. Os principais achados histológicos foram em região periportal, na qual havia dilatação dos ductos biliares e hiperplasia da parede ductal, com acentuado infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, contendo em seu interior estruturas parasitárias. Morfologicamente, o parasito foi identificado como *B. goliath*. Destes, amostras foram submetidas à extração de DNA para amplificação de *internal transcribed spacer 2* (ITS-2) por PCR. Os amplicons foram purificados e sequenciados; os produtos gerados foram submetidos à análise BLAST para determinar as semelhanças mais próximas no GenBank. As sequências do estudo foram alinhadas com as sequências de ITS-2 de *Brachycladium* spp. disponíveis no GenBank usando Clustal/W v.1.8.1; uma matriz de identidade foi calculada com o software BioEdit e obteve-se amplicons de ITS-2 de dois indivíduos com 100% de homologia com *B. goliath*. No conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que registra *M. novaeangliae* como hospedeiro definitivo de *B. goliath*. No terceiro artigo, morbilivirose por *Guiana Dolphin Cetacean Morbilivirus* (GD-CeMV) foi diagnosticada em duas *M. novaeangliae*. Não foram observadas lesões associadas à morbilivirose na necropsia; na microscopia, os principais achados foram em sistema nervoso central (SNC), no qual observou-se infiltrado inflamatório perivascular moderado a acentuado composto por linfócitos e plasmócitos, além de moderada gliose e vacuolização da substância branca e raros corpúsculos de inclusão eosinofílico intracitoplasmático. Secções de pulmão, cérebro, cerebelo e linfonodos foram submetidas à IHQ com o anticorpo monoclonal anti-*canine distemper virus*. No SNC, neurônios e astrócitos exibiram imunomarcagem acentuada, multifocal e citoplasmática. Submeteu-se amostras dos mesmos tecidos à extração de RNA e realizou-se a técnica de Semi-nested RT-PCR com primers para os genes L e P de *Morbilivirus*. Um fragmento de 411 pb do gene L foi amplificado em uma das amostras. Os produtos foram purificados e sequenciados, as sequências submetidas à análise BLAST, e múltiplos alinhamentos foram realizados com sequências recuperadas do GenBank utilizando ClustalW. A árvore filogenética baseada no gene da proteína do fragmento L foi construída com o software MEGA6. A sequência apresentou homologia com GD-CeMV (ID: MG845553.1). No conhecimento dos autores, estes são os primeiros relatos de GD-CeMV causando encalhe de espécimes vivos de *M. novaeangliae*, com descrição histopatológica.

Palavras-chave: *Cetacean Morbilivirus*, *Guiana Dolphin Morbilivirus*, parasito hepático, linfoma, baleia-jubarte.

ABSTRACT

Three articles are included in this thesis: the first is a case report of small B-cell lymphocytic lymphoma (SLL-B) in an adult male of South American fur seal (*Arctocephalus australis*) in the state of Rio Grande do Sul (RS). At necropsy, the specimen showed pale mucosa, poor body condition and significant and generalized enlargement of the lymph nodes, in addition to white and yellowish-white multifocal tumor nodules affecting the kidneys, small intestine, lymph nodes and spleen, in addition to its enlargement. Histologically, there was neoplastic proliferation of small lymphocytes arranged in a mantle, poorly delimited and non-encapsulated, with low mitotic activity and moderate anisocytosis and anisokaryosis. In the immunohistochemical technique (IHC), the neoplasm showed diffuse and marked immunostaining for CD79 α and CD20 antibodies in neoplastic lymphocytes and negative immunostaining for CD3. Thus, the SLL-B diagnosis was established. The other articles are about three humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) that stranded alive in RS and Santa Catarina states. The second article is about the characterization of infection by *Brachycladium goliath* in the three humpback whales. During necropsies, multifocal whitish, firm, and irregular areas were observed in the hepatic capsule and moderate atrophy of the hepatic lobe in one of the cases. When cut, there was evidence, proliferation and dilation of the bile ducts, yellowish color of the parenchyma and whitish and firm multifocal areas. Digenetics found in the ducts were sent for morphological and molecular identification. The main histological findings were in the periportal region, in which there was dilatation of the bile ducts and hyperplasia of the ductal wall, with a marked inflammatory infiltrate of lymphocytes, plasmocytes and eosinophils, containing parasitic structures inside. Morphologically, the parasite was identified as *B. goliath*. Of these, samples were subjected to DNA extraction for amplification of internal transcribed spacer 2 (ITS-2) by PCR. The amplicons were purified and sequenced; generated products were subjected to BLAST analysis to determine the closest similarities in GenBank. The study sequences were aligned with the *Brachycladium* ITS-2 sequences available from GenBank using Clustal/W v.1.8.1; an identity matrix was calculated with BioEdit software and ITS-2 amplicons were obtained from two individuals with 100% homology to *B. goliath*. To the authors' knowledge, this is the first study that records *M. novaeangliae* as a definitive host of *B. goliath*. In the third article, morbillivirus by Guiana Dolphin Cetacean Morbillivirus (GD-CeMV) was recorded in two *M. novaeangliae*. No lesions associated with morbillivirus disease were observed at necropsy; on microscopy, the main findings were in the central nervous system, in which a moderate to severe perivascular inflammatory infiltrate composed of lymphocytes and plasma cell was observed, in addition to moderate gliosis and vacuolation of the white matter and rare intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies. Lung, brain, cerebellum, and lymph node sections were subjected to IHC with the anti-canine distemper virus monoclonal antibody. In the central nervous system, neurons and astrocytes exhibited marked multifocal and cytoplasmic immunostaining. Samples from the same tissues were subjected to RNA extraction and the Semi-nested RT-PCR technique was performed with primers for the L and P genes of Morbillivirus. A 411 bp fragment of the L gene was amplified in one of the samples. The products were purified and sequenced. Sequences were subjected to BLAST analysis, and multiple alignments were performed with sequences retrieved from GenBank using ClustalW. The phylogenetic tree based on the L fragment protein gene was performed using the MEGA6 software. The sequence showed homology with GD-CeMV (ID: MG845553.1). To the authors' knowledge, these are the first reports of GD-CeMV causing stranding of live specimens of *M. novaeangliae*, with histopathological description.

Keywords: Cetacean Morbillivirus, Guiana Dolphin Morbillivirus, liver parasite, lymphoma, humpback whale.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	ARTIGOS CIENTÍFICOS.....	16
2.1	Artigo 1	17
2.2	Artigo 2	22
2.3	Artigo 3	28
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	31
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

1 INTRODUÇÃO

Pinípedes são carnívoros semiaquáticos com ampla distribuição mundial. No Brasil, há registro da ocorrência de oito espécies, sendo o lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis* Zimmermann 1783), da família Otariidae, a mais frequente (FRAINER; HEISSLER; MORENO, 2018; PINEDO; ROSAS; MARMONTEL, 1992; SILVA *et al.*, 2014). *A. australis* ocorre no Brasil, Uruguai, Argentina, Peru e Chile. Todos os anos, inúmeros espécimes de *A. australis* são observados no litoral do Brasil entre junho e novembro, principalmente na região Sul (PINEDO; ROSAS; MARMONTEL, 1992; SILVA *et al.*, 2014). No Rio Grande do Sul, estado do Brasil onde há o maior registro da espécie, encontram-se descansando dispersos na orla, habitualmente no Refúgio da Vida Silvestre (REVIS) da Ilha dos Lobos, no município de Torres, e esporadicamente no REVIS do Molhe Leste, em São José do Norte. Não há colônias reprodutivas de pinípedes no País; os espécimes que aqui ocorrem são, na maioria, machos juvenis nos primeiros anos de vida, oriundos das colônias reprodutivas do Uruguai (PINEDO; ROSAS; MARMONTEL, 1992; SILVA *et al.*, 2014).

O número de relatos de neoplasias cresceu muito nos últimos 25 anos devido ao aumento no número de animais examinados por patologistas e o aumento da expectativa de vida de espécimes em cativeiro (COLEGROVE, 2018). A etiologia da maioria dos tumores em animais silvestres, inclusive de mamíferos marinhos, é desconhecida. Apesar disso, agentes químicos, físicos e infecciosos são associados com a ocorrência de tumores; o efeito carcinogênico desses agentes são modulados por fatores do indivíduo, como idade e genética (COLEGROVE, 2018; GULLAND *et al.*, 2020; MARTINEAU *et al.*, 2002; TANABE; IWATA; TATSUKAWA, 1994; VENN-WATSON *et al.*, 2012). Linfomas são neoplasias malignas que se desenvolvem a partir de linfócitos B, T e NK, são definidos como tumores originados de tecidos linfoides fora da medula óssea, nos quais os linfonodos são os principais sítios afetados em animais domésticos e possuem comportamento biológico altamente variável. O linfoma linfocítico de pequenas células B é um linfoma não-Hodking de ocorrência incomum em animais domésticos e silvestres (VALLI *et al.*, 2016). Em mamíferos marinhos, casos de linfoma foram relatados em diferentes espécies de cetáceos (BOSSART *et al.*, 1997; DÍAZ-DELGADO *et al.*, 2018), sirênios (HAMMER *et al.*, 2005) e carnívoros aquáticos (STEDHAM *et al.* 1977, STROUD & STEVENS 1980, LABRUT *et al.* 2007, TANAKA *et al.* 2013, MATT *et al.* 2020); entretanto, não há relatos em lobos-marinhos. O primeiro artigo da tese versa sobre um raro caso de linfoma linfocítico de pequenas células B (SLL-B) em um espécime de *A. australis*.

Baleias, botos, golfinhos e toninhas são nomes populares de animais pertencentes à ordem Cetacea, que se divide em duas subordens: Odontoceti, a qual pertence as espécies que possuem dentes, e mysticeti, a qual pertence os cetáceos com barbatanas (ENGEL; MARCOVALDI, 2007; LODI; BOROBIA, 2013). A baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*, Borowski, 1781) é um misticeto com ocorrência em todos os oceanos e há diversas populações da espécie espalhadas pelo mundo. Durante o verão, todas as populações são encontradas em altas latitudes, nas áreas de alimentação e, durante o inverno, migram para águas tropicais, em baixas latitudes, para reprodução, parição e cuidados neonatais. No hemisfério Sul, existem sete populações (A-G) da espécie; destas, a população “A” migra para o Banco de Abrolhos, no litoral sudeste e nordeste do Brasil, na época de reprodução, parição e cuidados neonatais (CLAPHAM; MEAD, 1999; BAMFORD *et al.*, 2022; ENGEL; MARCOVALDI, 2007).

A maioria dos helmintos parasitos de mamíferos marinhos compõem a fauna de animais hígidos, estão bem adaptados e causam mínimo efeito aos seus hospedeiros (GERACI; LOUNSBURY, 2005; MEASURES, 2018). Porém, estresse e doenças pré-existentes podem afetar a homeostase do hospedeiro e, desta forma, parasitos inócuos podem transformar-se em patógenos graves e induzirem a quadros de doença (GERACI; LOUNSBURY, 2005). A degradação do habitat, imunotoxinas e outros fatores estressores relacionadas à nutrição, ao ambiente ou à atividade antrópica são fatores com potencial de impacto, ainda pouco compreendido, na homeostase dos mamíferos marinhos (MEASURES, 2018; O’HARA; HART, 2018). Como patógenos, as infecções parasitárias podem causar impacto direto ou indireto na saúde, no estado imunológico, na sobrevivência, na dinâmica populacional e na convalescença de mamíferos marinhos (MEASURES, 2018). O conhecimento sobre fauna parasitária é necessário para compreensão do papel que os parasitos possuem em mamíferos marinhos, para identificação de fatores de risco e ameaças à conservação, para servir de suporte às decisões de manejo e para avaliar potenciais riscos à saúde humana (MEASURES, 2018). Digenéticos hepáticos são encontrados em diversos mamíferos domésticos e silvestres causando debilidade, óbito e perdas econômicas (CULLEN; STALKER, 2016; DRACZ *et al.*, 2016; MULLER, 2023). Parasitos hepáticos da família Brachycladiidae são encontrados em mamíferos marinhos de diversas espécies (FERNANDEZ *et al.*, 1995; FRAIJA-FERNÁNDEZ *et al.*, 2014; LEHNERT; RANDHAWA; POULIN, 2017; MATEU; RAGA; AZNAR, 2011). Há poucas informações sobre ciclo de vida, morfologia, biologia molecular, hospedeiros intermediários, paratênicos e definitivos dos digenéticos da família *Brachycladiidae*, bem como sobre as lesões causadas e os riscos aos hospedeiros. O segundo artigo da tese versa sobre a

caracterização patológica, morfológica e molecular de infecção por *Brachycladium goliath* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*).

O avanço da medicina e dos métodos diagnósticos ao longo dos anos oportunizaram a expansão do conhecimento sobre diversos aspectos da saúde dos mamíferos marinhos, inclusive nas áreas de patologia e da microbiologia; desta forma, os agentes etiológicos de diversas doenças foram identificados, alguns deles com potencial zoonótico (DUIGNAN *et al.*, 2018; REIDARSON; GARCÍA-PÁRRAGA; WIEDERHOLD, 2018; TRYLAND, 2018; TRYLAND; LARSEN; NYMO, 2018; VILELA *et al.*, 2021). Igualmente aos demais agentes microbiológicos, o conhecimento sobre vírus em mamíferos marinhos aumentou consideravelmente nos últimos anos. Os vírus estão associados com neoplasias em diferentes espécies, podem causar óbitos em casos individuais e podem ser causadores de importantes epizootias de diversas espécies, como a morbilivirose em mamíferos marinhos (COLEGROVE, 2018; DUIGNAN *et al.*, 2018; VAN BRESSEM *et al.*, 2014). O primeiro registro de morbilivirose em mamíferos aquáticos ocorreu em pinípedes, no qual aproximadamente 18.000 focas-comuns (*Phoca vitulina*) e centenas de focas-cinzentas (*Halichoerus grypus*) foram à óbito no noroeste da Europa, em 1988 e 1989; nesta epizootia, o agente etiológico *Phocine Distemper Virus* (PDV) foi identificado (HEIDE-JORGENSEN *et al.*, 1992; KENNEDY, 1998). O primeiro registro de infecção por *Morbilivírus* em cetáceos ocorreu em seis botos-do-porto (*Phocoena phocoena*), na Irlanda, no final de 1988. Em 1990, casos de morbilivirose foram registrados em *P. phocoena* em diversos países da Europa. A partir da amostra destes animais, foi identificado a primeira cepa (*Porpoise Morbilivirus*, PMV) do segundo *Morbilivirus* de mamíferos aquáticos, o *Cetacean Morbilivirus* (CeMV) (BARRETT *et al.*, 1993; KENNEDY, 1998; MCCULLOUGH *et al.*, 1991; VISSER *et al.*, 1993; WELSH *et al.*, 1992). Deste então, diversas cepas de CeMV foram registradas causando encalhes de animais vivos e óbitos, em casos esporádicos ou epizootias, de diferentes espécies de cetáceos, em vários locais do mundo. Atualmente, conhece-se sete cepas de CeMV: *Dolphin Morbilivirus* (DMV), *Porpoise Morbilivirus* (PMV), *Pilot Whale morbilivirus* (PWMV), *Beaked Whale morbilivirus* (BWMV), a cepa de CeMV detectada em *Tursiops aduncus* na Austrália, o *Guiana Dolphin Morbilivirus* (GDMV) e o *Fraser's Dolphin Morbilivirus* (FDMV). As sete cepas estão distribuídas em duas linhagens: CeMV-1, “a linhagem antiga”, na qual estão incluídas DMV, PMV, PWMV, BWMV, e CeMV-2, “a nova linhagem”, na qual estão incluídas as cepas descobertas recentemente: CeMV detectada em *Tursiops aduncus* na Austrália, GDMV e FDMV (DÍAZ-DELGADO *et al.*, 2018; DOMINGO *et al.*, 1990, 1992; GROCH *et al.*, 2014; GROCH, Kátia Regina *et al.*, 2018; GROCH, Kátia R. *et al.*, 2018; JACOB *et al.*, 2016;

LIPSCOMB *et al.*, 1994; STEPHENS *et al.*, 2014; TAUBENBERGER *et al.*, 1996; VAN BRESSEM *et al.*, 2014; WEST *et al.*, 2013, 2015, 2021). O terceiro artigo da tese descreve encefalite por *Morbilivirus* em baleias-jubarte (*M. novaeangliae*).

2 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os resultados do presente projeto estão apresentados na forma de três artigos científicos:

1. Linfoma linfocítico de pequenas células B em um lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) de vida livre;
2. Caracterização patológica, morfológica e molecular de infecção por *Brachycladium goliath* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*);
3. Caracterização patológica, imuno-histoquímica e molecular de *Cetacean morbilivirus* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*).

Neste documento, os artigos científicos são apresentados em língua portuguesa com o objetivo de facilitar o acesso às informações pela população do País. Para a publicação nos periódicos, serão traduzidos para o inglês.

2.1 Artigo 1

“Linfoma linfocítico de pequenas células B em um lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) de vida livre”, o qual foi redigido sob as normas do periódico *Diseases of Aquatic organisms*. O artigo foi submetido em 14.12.2023.

Linfoma linfocítico de pequenas células B em um lobo-marinho-sul-americano (*Arctocephalus australis*) de vida livre

Derek B de Amorim^{1,2,3*}, Paula R Ribeiro^{1,2}, Marcele Bandinelli², Joanna V Z Echenique^{1,2}, Matheus V Bianchi², Paula R Almeida⁴, Fernando R Spilki⁴, Leticia F Baumbach^{5,6}, Luciana Sonne^{1,2}

1. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV) Faculdade de Veterinária, (FAVET), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).
2. Setor de Patologia Veterinária (SPV), UFRGS.
3. Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos (CECLIMAR), Campus Litoral Norte (CLN), UFRGS.
4. Laboratório de Microbiologia Molecular, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Feevale
5. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM), Centro de Biotecnologia (CBiot), UFRGS.
6. Laboratório de Virologia Veterinária (LabViroVet), UFRGS.

*Autor correspondente: derek@ufrgs.br

Cabeçalho: B-SLL in *Arctocephalus australis*

Os linfomas são neoplasias malignas do sistema hematopoiético originadas a partir de linfócitos e com comportamento biológico altamente variável. O linfoma linfocítico de pequenas células B (B-SLL) é um linfoma não Hodgkin descrito com pouca frequência em animais domésticos e selvagens. O presente trabalho descreve um caso de B-SLL em um espécime adulto de *Arctocephalus australis* de vida livre no sul do Brasil. Os principais achados de necropsia incluem condição corporal debilitada, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia grave e difusa, e múltiplos nódulos branco-amarelados afetando os rins e o intestino delgado. Histologicamente, esses órgãos estavam parciais ou totalmente obliterados por pequenos linfócitos neoplásicos dispostos em mantos, com moderada anisocitose e anisocariose e baixa contagem mitótica. Essas células foram fortemente imunomarcadas para CD79 α e CD20, enquanto foram negativas para CD3. O diagnóstico de B-SLL multicêntrico foi estabelecido e, até onde se sabe, não foi previamente descrito no gênero *Arctocephalus*.

Palavras-chave: lobo-marinho, linfoma, mamífero marinho, pinípede, saúde únic

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arbiza J, Blanc A, Castro-Ramos M, Katz H, de Leon AP, Clar M (2012) Uruguayan Pinnipeds (*Arctocephalus australis* and *Otaria flavescens*): Evidence of Influenza Virus and *Mycobacterium pinnipedii* Infections. In: *New Approaches to the Study of Marine Mammals*. InTech
- Baldassin P, Amorim DB, Werneck MR, Mariani DB (2017) Pathologies of pinnipeds in Brazil. In: *Tropical pinnipeds: bio-ecology, threats, and conservation*, 1st ed. Alava JJ (ed) CRC Press, Boca Raton, p 269–282
- Batallés LM, Pin O, Lima M (1990) Estudio del crecimiento del lobo fino sudamericano (*Arctocephalus australis*) en isla de lobos, Uruguay. *Frente marítimo* 7:69–73.
- Borella F, Grandi F, Vales DG, Goodall RNP, Crespo EA (2013) Esquema preliminar de fusión epifisaria en huesos de lobos marinos (*Arctocephalus australis* y *Otaria flavescens*), su contribución en los análisis zooarqueológicos. *Tendencias teórico-metodológicas y casos de estudio en la arqueología de la Patagonia*:39–51.
- Bossart GD, Duignan PJ (2018) Emerging viruses in marine mammals. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources* 13.
- Colegrove KM (2018) Noninfectious diseases. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds) CRC Press, Boca Raton, p 288–317
- Colegrove KM, Wellehan JFX, Rivera R, Moore PF, Gulland FMD, Lowenstine LJ, Nordhausen RW, Nollens HH (2010) Polyomavirus infection in a free-ranging California sea lion (*Zalophus californianus*) with intestinal T-cell lymphoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 22:628–632.
- Dagleish MP, Barrows M, Maley M, Killick R, Finlayson J, Goodchild R, Valentine A, Saunders R, Willoughby K, Smith KC, Stidworthy MF (2013) The first report of Otarine Herpesvirus-1-associated urogenital carcinoma in a South American fur seal (*Arctocephalus australis*). *J Comp Pathol* 149:119–125.
- Díaz-Delgado J, Fernández A, Sierra E, Sacchini S, Andrada M, Vela AI, Quesada-Canales O, Paz Y, Zucca D, Groch K, Arbelo M (2018) Pathologic findings and causes of death of stranded cetaceans in the Canary Islands (2006-2012). *PLoS One* 13.
- Doescher BM, Pawloski J, Renner M, Ehrhart EJ, Kinsel MJ, Patel R, Ogilvie G (2016) Small B Cell Lymphocytic Leukemia in a California Sea Lion (*Zalophus californianus*) IAAAM.
- Grandi F, Barra CN (2019) Citopatología dos linfomas em cães e gatos. *Vet School, São Paulo*.
- Gulland FMD, Hall AJ, Ylitalo GM, Colegrove KM, Norris T, Duignan PJ, Halaska B, Acevedo Whitehouse K, Lowenstine LJ, Deming AC, Rowles TK (2020) Persistent contaminants and Herpesvirus OtHV1 are positively associated with cancer in wild california sea lions (*Zalophus californianus*). *Front Mar Sci* 7.

- Hammer AS, Klausen B, Knold S, Dietz HH, Dutoit SJH (2005) Malignant lymphoma in a west indian manatee (*Trichechus manatus*). *J Wildl Dis* 41:834–838.
- Katz H, Morgades D, Castro-Ramos M (2012) Pathological and Parasitological Findings in South American Fur Seal Pups (*Arctocephalus australis*) in Uruguay. *ISRN Zool* 2012:1–7.
- Labrut S, Wyers M, Miclard J, Colle M-A (2007) Primary Meningeal T-Cell Lymphoma in a Harbor Seal (*Phoca vitulina*).
- Mager DL, Stoye JP (2014) Mammalian Endogenous Retroviruses. In: *Mobile DNA*, 3rd ed. Craig NL, Chandler M, Gellert M, Lambowitz AM, Rice PA, Sandmeyer S (eds) ASM Press, Washington, p 1079–1100
- Martineau D, Lemberger K, Dallaire A, Labelle P, Lipscomb TP, Michel P, Mikaelian I (2002) Cancer in Wildlife, a Case Study: Beluga from the St. Lawrence Estuary, Québec, Canada. *Environ Health Perspect* 110.
- Matt CL, Mans C, Doss G, Pinkerton M, Elsmo B (2020) Splenic T-cell lymphoma in a north american river otter (*Lontra canadensis*). *Open Vet J* 10:272–275.
- Muller L (2020) Past, present and future of oncolytic reovirus. *Cancers (Basel)* 12:1–26.
- Newman SJ, Smith SA (2006) Marine Mammal Neoplasia: A Review. *Vet Pathol* 43:865–880.
- O'hara TM, Hart L (2018) Environmental toxicology. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*, third. Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds) CRC Press, Boca Raton, p 318–339
- OIE (2022) Infection with equid herpesvirus-1 and 4 (version adopted in May 2017). In: *Manual of Diagnostic Test and Vaccines for terrestrial animals 2022*. OIE (ed) Paris, p 1320–1332
- Pavés HJ, Schlatter RP, Franco-Trecu V, Páez E, Sielfeld W, Araos V, Giesecke R, Batallés LM, Cappozzo HL (2016) Temporada reproductiva del lobo fino Sudamericano (*Arctocephalus australis*, Otariidae: Carnivora): ¿Nuevos antecedentes para establecer historias evolutivas independientes? *Rev Biol Mar Oceanogr* 51:241–253.
- Pinedo MC (1990) Ocorrência de pinípedes na costa brasileira. *Sér Zool, Lisboa*, 15 (2): 37-48
- Seguel M, Calderón K, Colegrove K, Adkesson M, Cárdenas-Alayza S, Paredes E (2018) Helminth and respiratory mite lesions in Pinnipeds from Punta San Juan, Peru. *Acta Parasitol* 63:839–844.
- Seguel M, Paredes E, Pavés H, Molina R, Henríquez F, De Groote F, Schlatter R (2011) Pathological Findings in South American Fur Seal Pups (*Arctocephalus australis gracilis*) found Dead at Guafo Island, Chile. *J Comp Pathol* 145:308–317.
- Stedham MA, Casey HW, Keyes MC (1977) Lymphosarcoma in an infant northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). *J Wildl Dis* 13:176–179.

- Stroud RK, Stevens DR (1980) Lymphosarcoma in a harbor seal (*Phoca vitulina richardii*). *J Wildl Dis* 16:267–270.
- Tanaka N, Izawa T, Kashiwagi-Yamamoto E, Kuwamura M, Ozaki M, Nakao T, Yamate J (2013) Primary Cerebral T-Cell Lymphoma in a Sea Otter (*Enhydra lutris*). *Journal of Veterinary Medical Science* 75:1667–1669.
- Valli VE, Bienzle D, Meuten DJ (2017) Tumors of the Hemolymphatic System. In: *Tumors in Domestic Animals*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, p 203–321
- Valli VE, Myint M, Barthel A, Bienzle D, Caswell J, Colbatzky F, Durham A, Ehrhart EJ, Johnson Y, Jones C, Kiupel M, Labelle P, Lester S, Miller M, Moore P, Moroff S, Roccabianca P, Ramos-Vara J, Ross A, Scase T, Tvedten H, Vernau W (2011) Classification of canine malignant lymphomas according to the world health organization criteria. *Vet Pathol* 48:198–211.
- Valli VEO (Ted), Kiupel M, Bienzle D, Wood RD (2016) Hematopoietic System. In: *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of Domestic Animals: Volume 3*. Elsevier, p 102-268.e1
- Venn-Watson S, Benham C, Gulland FM, Smith CR, St Leger J, Yochem P, Nollens H, Blas-Machado U, Saliki J, Colegrove K, Wellehan JF, Rivera R (2012) Clinical relevance of novel Otarine herpesvirus-3 in California sea lions (*Zalophus californianus*): lymphoma, esophageal ulcers, and strandings. *Vet Res* 43:85.

2.2 Artigo 2

“Caracterização patológica, morfológica e molecular de infecção por *Brachycladium goliath* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*)” o qual foi redigido sob as normas do periódico *Parasitology Research*.

Caracterização patológica, morfológica e molecular de infecção por *Brachycladium goliath* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*)

Derek Blaese de Amorim^{1,2}, Manoela Marchezan Piva¹, Anderson Hentz Gris¹, Paula Reis Ribeiro¹, Estevam G. Lux Hoppe³, João Fábio Soares⁴, Fernanda Felicetti Perosa¹, Fernanda Genro Cony¹, Luciana Sonne¹

1. Setor de Patologia Veterinária, Departamento de Patologia Clínica Veterinária, Faculdade de Veterinária (FAVET), UFRGS. Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS), Brazil.
2. Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos, Campus Litoral Norte, UFRGS. Imbé, RS, Brazil.
3. Laboratório de Protozoologia e Rickettsioses Vetoriais, FAVET, UFRGS. Porto Alegre, RS, Brazil
4. Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única, Escola de Agricultura e Veterinária, Universidade Estadual de São Paulo. Jaboticabal, São Paulo, Brazil

Abstract: A baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*) é um mysticeto cosmopolita com registro de ocorrência em todos os oceanos. A espécie é observada no litoral brasileiro principalmente entre julho e novembro para parição, cuidados neonatais e reprodução. Encalhe de espécimes vivos e mortos ocorre no litoral nordeste, sudeste e sul do Brasil. Em 2021 e 2022, três baleias-jubarte encalharam vivas no litoral dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Os espécimes foram necropsiados imediatamente após o óbito. Nos três casos havia áreas multifocais esbranquiçadas, firmes e irregulares na cápsula hepática e atrofia moderada do lobo hepático em um dos casos. Ao corte havia evidênciação, proliferação e dilatação de ductos biliares, além de coloração amarelada do parênquima e áreas multifocais esbranquiçadas e firmes. No interior dos ductos havia inúmeros digenéticos medindo 39 mm de comprimento, 8 mm de largura e contendo ventosas oral e ventral. Os quais foram identificados encaminhados para identificação morfológica e molecular, através da amplificação e sequenciamento do ITS-2. Os principais achados histológicos foram em região periportal, na qual havia dilatação dos ductos biliares e hiperplasia da parede ductal, com acentuado infiltrado inflamatório de linfócitos, plasmócitos e eosinófilos, frequentemente contendo em seu interior estruturas parasitárias. Morfológicamente, os parasitas foram identificados como *Brachycladium goliath* (Digenea: Brachycladiidae). Foram obtidos amplicons de ITS-2 de dois espécimes, os quais

apresentaram 100% de homologia com *Brachycladium goliath*. Apesar de não ser a causa principal dos encalhes, a lesão hepática pode estar relacionada com os quadros de debilidade dos hospedeiros. No conhecimento dos autores, este é o primeiro estudo que registra *M. novaeangliae* como hospedeiro definitivo de *B. goliath* e que descreve as lesões causadas pelo parasito neste hospedeiro.

Keywords: parasito hepático, mamífero marinho, parasitose, baleia-jubarte, Brachycladiidae

Referências

- Adrien M de L, Schild AL, Marcolongo-Pereira C, et al (2013) Acute fasciolosis in cattle in southern Brazil. *Pesq Vet Bras* 33:705–709
- Altschup SF, Gish W, Miller W, et al (1990) Basic Local Alignment Search Tool. *J Mol Biol* 215:403–410
- Anderson GR, Barker SC (1998) Inference of phylogeny and taxonomy within the Didymozoidae (Digenea) from the second internal transcribed spacer (ITS2) of ribosomal DNA. *Syst Parasitol* 41:87–94
- Bamford CCG, Jackson JA, Kennedy AK, et al (2022) Humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) distribution and movements in the vicinity of South Georgia and the South Sandwich Islands Marine Protected Area. *Deep Sea Res 2 Top Stud Oceanogr* 198:. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2022.105074>
- Beneden PJ van (1858) Note sur une nouvelle espèce de distome, le géant de sa famille, habitant le foie d'une baleine, nommée *Distoma goliath*, v. Ben. *Bulletins de l'Académie royale des sciences, des lettres et des beaux-arts de Belgique* 2:95–97
- Bidone N de B, Gonçalves AP, Bremm C, et al (2021) Slaughter condemnation in bovine due to parasitic lesions and their economic impact in federal inspection system establishments in Brazil and in state inspection system in Rio Grande do Sul state. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 30:1–10. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120201079>
- Clapham PJ, Mead JG (1999) *Megaptera novaeangliae*. *American Society of Mammalogists* 1–9
- Cullen JM, Stalker MJ (2016) Liver and biliary system. In: Maxie MG (ed) Jubb, Kemmedy, and Palmer's Pathology of domestic animals, 6th edn. Elsevier, Guelph, pp 258–352

- Dracz RM, Ribeiro VMA, Pereira CA de J, Lima W dos S (2016) Ocorrência de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em capivara (*Hydrochoerus Hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 25:364–367. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612016021>
- Fernandez M, Balbuena JA, Pertusa JF, Raga JA (1995) Biometric variability of *Hadwenius Tursionis* (Marchi, 1873) (Digenea, Campulidae) from the intestine of the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). *Syst Parasitol* 30:67–76
- Frajja-Fernández N, Aznar FJ, Raga JA, et al (2014) A new brachycladiid species (Digenea) from Gervais' beaked whale *Mesoplodon europaeus* in north-western Atlantic waters. *Acta Parasitol* 59:510–517. <https://doi.org/10.2478/s11686-014-0274-7>
- Geraci JR, Lounsbury VJ (2005) *Marine Mammals Ashore. A field guide for strandings*, 2nd edn. National Aquarium in Baltimore, Baltimore
- Gibson DI (2005) Family Brachycladiidae Odhner, 1905. In: Jones A, Bray RA, Gibson DI (eds) *Keys to the Trematoda*, 1st edn. CABI Publishing and The Natural History Museum, Wallingford, pp 641–652
- Hermosilla C, Silva LMR, Prieto R, et al (2015) Endo- and ectoparasites of large whales (Cetartiodactyla: Balaenopteridae, Physeteridae): Overcoming difficulties in obtaining appropriate samples by non- and minimally- invasive methods. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 4:414–420. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.11.002>
- Lehnert K, Randhawa H, Poulin R (2017) Metazoan parasites from odontocetes off New Zealand: new records. *Parasitol Res* 116:2861–2868. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5573-0>
- Luque JL, Muniz-Pereira LC, Siciliano S, et al (2010) Zootaxa, Checklist of helminth parasites of cetaceans from Brazil. *Zootaxa* 2548:57–68
- Margolis L, Pike GC (1955) Some helminth parasites of Canadian Pacific Whales. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 12:97–120
- Marigo J, Vicente ACP, Valente ALS, et al (2008) Redescription of *Synthesium pontoporae* n. comb. with notes on *S. tursionis* and *S. seymouri* n. comb. (Digenea: Brachycladiidae Odhner, 1905). *Journal of Parasitology* 94:505–514. <https://doi.org/10.1645/GE-1306.1>

- Mateu P, Raga JA, Aznar FJ (2011) Host specificity of *Oschmarinella rochebruni* and *Brachycladium atlanticum* (Digenea: Brachycladiidae) in five cetacean species from western Mediterranean waters. *J Helminthol* 85:12–19. <https://doi.org/10.1017/S0022149X10000180>
- Measures LN (2018) Helminths and Parasitic Arthropods. In: Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds) *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, pp 471–497
- Migaki G, Dyke DV, Hubbard RC (1971) Some histopathological lesions caused by helminths in marine mammals. *J Wildl Dis* 7:21–289
- Muller G (2023) Fasciolose. In: Riet-Correa F, Schild AL, Lemos R, et al. (eds) *Doenças de ruminantes e equídeos*, 4th edn. Medvet, São Paulo
- Navarro MA, Dutra F, Briano C, et al (2017) Pathology of Naturally Occurring Bacillary Hemoglobinuria in Cattle. *Vet Pathol* 54:457–466. <https://doi.org/10.1177/0300985816688945>
- O'hara TM, Hart L (2018) Environmental toxicology. In: Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds) *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, pp 318–339
- Raga AJ, Fernández M, Balbuena JA, Aznar FJ (2008) Parasites. In: Perrin WF, Wursig B, Thewissen JGM (eds) *Encyclopedia of marine mammals*, 2nd edn. Academic Press, Burlington
- Raverty S, Duignan PJ, Jepson PD, Morell M (2018) Marine mammal gross necropsy. In: Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL (eds) *Handbook of marine mammal medicine*, 3rd edn. CRC Press, Boca Raton, pp 249–265
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22:4673–4680
- World Register of Marine Species (WoRM) (2023) *Brachycladium goliath* (van Beneden, 1858) Fraija-Fernández, Aznar, Raga, Gibson & Fernández, 2014. In: Accessed at: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=753852> on 2023-03-02

Zerbini AN, Andriolo A, Heide-Jørgensen MP, et al (2006) Satellite-monitored movements of humpback whales *Megaptera novaeangliae* in the Southwest Atlantic Ocean. Mar Ecol Prog Ser 313:295–304. <https://doi.org/10.3354/meps313295>

2.3 Artigo 3

“Caracterização patológica, imuno-histoquímica e molecular de *Cetacean Morbillivirus* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*)” o qual foi redigido sob as normas do periódico *Emerging Infectious Diseases*.

Caracterização patológica, imuno-histoquímica e molecular de *Cetacean Morbillivirus* em baleia-jubarte (*Megaptera novaeangliae*)

Running page: *Cetacean Morbillivirus* em baleia-jubarte

Palavras-chave: Guiana dolphin Morbillivirus, mamífero marinho, epizootia, encalhe, baleia jubarte, cetáceo, mysticeto.

Título: Caracterização anatomopatológica, imuno-histoquímica e molecular de *Cetacean morbillivirus* em *Megaptera novaeangliae*

Autores: Derek B. de Amorim, Laura J. de Camargo, Paula R. Ribeiro, Juliana do C. Olegário, Jean Carlo O. Menegatt, Milena C. Paz, Lucas T. de Castro, Vanessa L. Ribeiro, Cláudio W. Canal, Luciana Sonne

Afiliação dos autores: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil (D.B. Amorim, L. J. de Camargo, P.R. Ribeiro, J.C. Olegário, J.C.O. Menegatt, M.C. Paz, L.T.Castro, C.W. Canal, L. Sonne)

Autor correspondente: Derek Blaese de Amorim. Centro de Estudos Costeiros, Limnológicos e Marinhos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Av. Tramandaí, 976, Centro, Imbé, RS, Brasil CEP: 95-625-000. E-mail: derek@ufrgs.br

Abstract: *Cetacean Morbillivirus* é um importante agente etiológico relacionado com encalhes de espécimes vivos e óbitos, em casos esporádicos ou epizootias, de diferentes cetáceos, em diversos locais do mundo. Nós relatamos morbilivirose causando o encalhe de duas baleias-jubarte (*Megaptera novaeangliae*), além da caracterização anatomopatológica, imuno-histoquímica e molecular.

Referências bibliográficas

1. Bamford CCG, Jackson JA, Kennedy AK, Trathan PN, Staniland IJ, Andriolo A, et al. Humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) distribution and movements in the vicinity of South Georgia and the South Sandwich Islands Marine Protected Area. Deep Sea Res 2 Top Stud Oceanogr. 2022 Apr 1;198.

2. Duignan PJ, van Bresse MF, Cortes-Hinojosa G, Kennedy-Stoskoff S. Viruses. In: Gulland FMD, Dierauf LA, Whitman KL, editors. *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press; 2018. p. 331–66.
3. Slaviero M, Ehlers LP, de Lorenzo C, Zafalon-Silva B, Driemeier D, Pavarini SP, et al. Anatomopathological and immunohistochemical aspects of distemper virus in crab-eating foxes and pampa-foxes. *Acta Sci Vet*. 2019;47(1).
4. Tong S, Chern SWW, Li Y, Pallansch MA, Anderson LJ. Sensitive and broadly reactive reverse transcription-PCR assays to detect novel paramyxoviruses. *J Clin Microbiol*. 2008 Aug;46(8):2652–8.
5. Groch KR, Taniwaki SA, Favero CM, Brandão PE, Díaz-Delgado J, Fernández A, et al. A novel real-time PCR to detect Cetacean morbillivirus in Atlantic cetaceans. *J Virol Methods*. 2020 Nov 1;285.
6. Groch KR, Santos-Neto EB, Díaz-Delgado J, Ikeda JMP, Carvalho RR, Oliveira RB, et al. Guiana dolphin unusual mortality event and link to cetacean morbillivirus, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2018 Jul 1;24(7):1349–54.
7. Jo WK, Grilo ML, Wohlsein P, Andersen-Ranberg EU, Hansen MS, Kinze CC, et al. Dolphin morbillivirus in a fin whale (*Balaenoptera physalus*) in Denmark, 2016. Vol. 53, *Journal of Wildlife Diseases*. Wildlife Disease Association, Inc.; 2017. p. 921–4.
8. Groch KR, Blazquez DNH, Marcondes MCC, Santos J, Colosio A, Díaz Delgado J, et al. Cetacean morbillivirus in Humpback whales' exhaled breath. *Transbound Emerg Dis*. 2021 Jul 1;68(4):1736–43.
9. Groch KR, Groch KR, Kolesnikovas CKM, de Castilho P V., Moreira LMP, Barros CRMB, et al. Cetacean morbillivirus in Southern Right Whales, Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2019 Jan 1;66(1):606–10.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Linfoma linfocítico de pequenas células B foi diagnosticado em lobo-marinho-sul-americano. Na microscopia, havia proliferação neoplásica de linfócitos pequenos disposto em manto com baixa atividade mitótica e moderadas anisocitose e anisocariose. Os principais achados macroscópicos foram linfadenomeglia, esplenomegalia, além de nódulos multifocais esbranquiçados em rins e intestino delgado. Na técnica de imuno-histoquímica, a neoplasia exibiu difusa e acentuada imunomarcção para os anticorpos CD79 α e CD20 e imunomarcção negativa para CD3.

Hepatopatias parasitárias em baleias-jubarte pelo trematódeo *Brachycladium goliath* caracterizaram-se por ser uma infecção crônica não fatal. Na macroscopia, observou-se fibrose, evidencição de ductos biliares com dilatação de lúmen, além de grande quantidade de bile e, na microscopia, dilatação dos ductos biliares e hiperplasia da parede ductal, além de acentuado infiltrado inflamatório. A etiologia dos digenéticos foi confirmada a partir de caracteres morfológicos e análise molecular de ITS-2.

Morbilivirose em duas baleias-jubarte com meningoencefalite não supurativa foram diagnosticadas como causa de encalhe no Sul do Brasil. Na macroscopia, não foram observadas lesões associadas ao vírus. Os principais achados na microscopia foram manguitos perivascularares linfoplasmocitários, gliose, vacuolização da substância branca e raros corpúsculos de inclusão eosinofílicos intracitoplasmáticos. Na técnica de imuno-histoquímica anti-CDV (*Canine Distemper Virus, Morbillivirus*), no sistema nervoso central, neurônios e astrócitos exibiram imunomarcção multifocal e citoplasmática. *Guiana Dolphin Morbillivirus* foi o agente etiológico identificado por RT-PCR.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAMFORD, C. C. G. *et al.* Humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) distribution and movements in the vicinity of South Georgia and the South Sandwich Islands Marine Protected Area. **Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, [s. l.], v. 198, 2022.
- BARRETT, T. *et al.* Dolphin and Porpoise Morbilliviruses are genetically distinct from Phocine Distemper Virus. **Virology**, [s. l.], v. 193, p. 1010–1012, 1993.
- BOSSART, G. D. *et al.* Immunoblastic Malignant Lymphoma in Dolphins: Histologic, Ultrastructural, and Immunohistochemical Features. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 454–458, 1997.
- CLAPHAM, P. J.; MEAD, J. G. *Megaptera novaeangliae*. **American Society of Mammalogists**, [s. l.], n. 604, p. 1–9, 1999.
- COLEGROVE, Ka. M. Noninfectious diseases. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. Boca Raton: CRC Press, 2018. p. 288–317.
- CULLEN, J. M.; STALKER, M. J. Liver and biliary system. *In*: MAXIE, M. G. (org.). **Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of domestic animals**. 6th. ed. Guelph: Elsevier, 2016. v. 2, p. 258–352.
- DÍAZ-DELGADO, J. *et al.* Pathologic findings and causes of death of stranded cetaceans in the Canary Islands (2006-2012). **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 10, 2018.
- DOMINGO, M. *et al.* Morbillivirus in dolphins. **Nature**, [s. l.], v. 348, p. 21, 1990.
- DOMINGO, M. *et al.* Pathologic and Immunocytochemical Studies of Morbillivirus Infection in Striped Dolphins (*Stenella coeruleoalba*). **Vet Pathol**, [s. l.], v. 29, p. 1–10, 1992.
- DRACZ, R. M. *et al.* Ocorrência de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em capivara (*Hydrochoerus Hydrochaeris*) (Linnaeus, 1766) em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 364–367, 2016.
- DUIGNAN, P. J. *et al.* Viruses. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 331–366.

- ENGEL, M.; MARCOVALDI, E. **Brasil mar das Baleias**. São Paulo: Bambu editora e artes gráficas, 2007.
- FERNANDEZ, M. *et al.* Biometric variability of *Hadwenius Tursionis* (Marchi, 1873) (Digenea, Campulidae) from the intestine of the bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821). **Systematic Parasitology**, [s. l.], v. 30, p. 67–76, 1995.
- FRAIJA-FERNÁNDEZ, N. *et al.* A new brachycladiid species (Digenea) from Gervais' beaked whale *Mesoplodon europaeus* in north-western Atlantic waters. **Acta Parasitologica**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 510–517, 2014.
- FRAINER, G.; HEISSLER, V. L.; MORENO, I. B. A wandering Weddell Seal (*Leptonychotes weddellii*) at Trindade Island, Brazil: the extreme sighting of a circumpolar species. **Polar Biology**, [s. l.], v. 41, n. 3, p. 579–582, 2018.
- GERACI, J. R.; LOUNSBURY, V. J. **Marine Mammals Ashore. A field guide for strandings**. 2nd. ed. Baltimore: National Aquarium in Baltimore, 2005.
- GROCH, Kátia R. *et al.* Guiana dolphin unusual mortality event and link to cetacean morbillivirus, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 24, n. 7, p. 1349–1354, 2018.
- GROCH, K. R. *et al.* Novel Cetacean Morbillivirus in Guiana Dolphin, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 20, p. 511–513, 2014.
- GROCH, Kátia Regina *et al.* Pathology and causes of death in stranded humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) from Brazil. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 13, n. 5, 2018.
- GULLAND, F. M. D. *et al.* Persistent Contaminants and Herpesvirus OthV1 Are Positively Associated with Cancer in Wild California Sea Lions (*Zalophus californianus*). **Frontiers in Marine Science**, [s. l.], v. 7, 2020.
- HAMMER, A. S. *et al.* Malignant Lymphoma in a West Indian Manatee (*Trichechus manatus*). **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 41, n. 4, p. 834–838, 2005.
- HEIDE-JORGENSEN, M. P. *et al.* Retrospective of the 1988 european seal epizootic. **Diseases of Aquatic Organisms**, [s. l.], v. 13, p. 37–62, 1992.
- JACOB, J. M. *et al.* Initial characterization of novel beaked whale morbillivirus in Hawaiian cetaceans. **Diseases of Aquatic Organisms**, [s. l.], v. 117, n. 3, p. 215–227, 2016.

KENNEDY, S. Morbillivirus Infections in Aquatic Mammals. **Journal of Comparative Pathology**, [s. l.], v. 119, p. 201–225, 1998.

LABRUT, S. *et al.* Primary Meningeal T-Cell Lymphoma in a Harbor Seal (*Phoca vitulina*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 323–328, 2007.

LEHNERT, K.; RANDHAWA, H.; POULIN, R. Metazoan parasites from odontocetes off New Zealand: new records. **Parasitology Research**, [s. l.], v. 116, n. 10, p. 2861–2868, 2017.

LIPSCOMB, T. P. *et al.* Morbilliviral Disease in Atlantic Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) from the 1987-1988 Epizootic. **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 30, n. 4, p. 567–571, 1994.

LODI, L.; BOROBIA, M. **Baleias, botos e golfinhos do Brasil: Guia de identificação**. Rio de Janeiro: Technical books Editora, 2013.

MARTINEAU, D. *et al.* Cancer in Wildlife, a Case Study: Beluga from the St. Lawrence Estuary, Québec, Canada. **Environmental Health Perspectives**, [s. l.], v. 110, n. 3, 2002.

MATEU, P.; RAGA, J. A.; AZNAR, F. J. Host specificity of *Oschmarinella rochebruni* and *Brachycladium atlanticum* (Digenea: Brachycladiidae) in five cetacean species from western Mediterranean waters. **Journal of helminthology**, [s. l.], v. 85, n. 1, p. 12–19, 2011.

MATT, C. L. *et al.* Splenic t-cell lymphoma in a north american river otter (*Lontra canadensis*). **Open Veterinary Journal**, [s. l.], v. 10, n. 3, p. 272–275, 2020.

MCCULLOUGH, S. J. *et al.* Isolation and characterization of a porpoise morbillivirus Brief Report. **Arch Virol**, [s. l.], v. 118, p. 247–252, 1991.

MEASURES, L. N. Helminths and Parasitic Arthropods. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3rd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 471–497.

MULLER, G. Fasciolose. *In*: RIET-CORREA, F. *et al.* (org.). **Doenças de ruminantes e equídeos**. 4. ed. São Paulo: Medvet, 2023. v. 1.

O'HARA, T. M.; HART, L. Environmental toxicology. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3rd. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 318–339.

- PINEDO, M. C.; ROSAS, F. C. W.; MARMONTEL, M. **Cetáceos e pinípedes do Brasil: uma revisão dos registros e guia para identificação das espécies**. Manaus: United Nations Environment Program (UNEP)/FUA., 1992.
- REIDARSON, T. H.; GARCÍA-PÁRRAGA, D.; WIEDERHOLD, N. Marine Mammal Mycoses. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 389–424.
- SILVA, K. B. *et al.* **Os mamíferos marinhos no litoral do Rio Grande do Sul**. Rio Grande: NEMA, 2014.
- STEDHAM, M. A.; CASEY, H. W.; KEYES, M. C. Lymphosarcoma in an infant northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 13, n. 2, p. 176–179, 1977.
- STEPHENS, N. *et al.* Cetacean morbillivirus in coastal indo-pacific bottlenose dolphins, Western Australia. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 666–670, 2014.
- STROUD, R. K.; STEVENS, D. R. Lymphosarcoma in a harbor seal (*Phoca vitulina richardii*). **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 16, n. 2, p. 267–270, 1980.
- TANABE, S.; IWATA, H.; TATSUKAWA, R. Global contamination by persistent organochlorines and their ecotoxicological impact on marine mammals. **The Science of the Total Environment**, [s. l.], v. 154, p. 163–177, 1994.
- TANAKA, N. *et al.* Primary Cerebral T-Cell Lymphoma in a Sea Otter (*Enhydra lutris*). **Journal of Veterinary Medical Science**, [s. l.], v. 75, n. 12, p. 1667–1669, 2013.
- TAUBENBERGER, J. K. *et al.* Two Morbilliviruses implicated in Bottlenose Dolphin Epizootics. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 2, n. 3, p. 213–216, 1996.
- TRYLAND, M. Zoonoses and public health. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF LESIE A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 47–62.
- TRYLAND, M.; LARSEN, A. K.; NYMO, I. H. Bacterial Infections and Diseases. *In*: GULLAND, F. M. D.; DIERAUF, L. A.; WHITMAN, K. L. (org.). **CRC Handbook of Marine Mammal Medicine**. 3. ed. Boca Raton: CRC Press, 2018. v. 1, p. 367–388.

VALLI, V. E.; BIENZLE, D.; MEUTEN, D. J. Tumors of the Hemolymphatic System. *In: Tumors in domestic animals*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2017. p. 203–321.

VAN BRESSEM, M. F. *et al.* **Cetacean morbillivirus: Current knowledge and future directions**. [S. l.]: MDPI AG, 2014.

VENN-WATSON, S. *et al.* Clinical relevance of novel Otarine herpesvirus-3 in California sea lions (*Zalophus californianus*): lymphoma, esophageal ulcers, and strandings. **Veterinary research**, [s. l.], v. 43, p. 85, 2012.

VILELA, R. *et al.* The taxonomy of two uncultivated fungal mammalian pathogens is revealed through phylogeny and population genetic analyses. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2021.

VISSER, I. K. *et al.* Fusion protein gene nucleotide sequence similarities, shared antigenic sites and phylogenetic analysis suggest that phocid distemper virus type 2 and canine distemper virus belong to the same virus entity. **Journal of General Virology**, [s. l.], v. 74, p. 1989–1994, 1993.

WELSH, M. J. *et al.* Characteristics of a cetacean morbillivirus isolated from a porpoise (*Phocoena phocoena*) **Arch Virol**. [S. l.]: Springer-Verlag, 1992.

WEST, K. L. *et al.* A Longman's beaked whale (*Indopacetus pacificus*) strands in Maui, Hawaii, with first case of morbillivirus in the central Pacific. **Marine Mammal Science**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 767–776, 2013.

WEST, K. L. *et al.* Coinfection and vertical transmission of Brucella and Morbillivirus in a neonatal sperm whale (*Physeter macrocephalus*) in Hawaii, USA. **Journal of Wildlife Diseases**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 227–232, 2015.

WEST, K. L. *et al.* Novel cetacean morbillivirus in a rare Fraser's dolphin (*Lagenodelphis hosei*) stranding from Maui, Hawai 'i. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 11, n. 1, 2021.

