

## Micosis sistémica por *Mortierella wolfii* en un bovino

A. Berrocal<sup>1</sup>, D.V.M., Dipl. R.N.V.A.; J. Rodríguez,<sup>3</sup> M.Sc.; J. Prendas;<sup>2</sup> J.L. Gamboa;<sup>1</sup> V. Cordero<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Patología. <sup>2</sup> Laboratorio de Micología, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. <sup>3</sup> Escuela de Medicina y Vicerrectoría de Investigación, Universidad Costa Rica, San José, Costa Rica.

### SUMMARY

#### Bovine systemic mycosis caused by *Mortierella wolfii*

A three and a half year old Holstein female which had initially suffered from anaplasmosis for six days was referred to the Hospital Veterinario, Universidad Nacional de Heredia, Costa Rica, due to unrecovery. During all the clinical onset the bovine was treated mainly with broad spectrum antibiotics and steroid drugs which probably provoked and immunosuppressive condition. After 17 days of illness the animal died of natural death.

Microscopical analysis revealed a systemic mycosis in the heart, lung, liver, spleen and kidney. The fungi was identified as *Mortierella wolfii* by mycological culture. Clinical, mycological and pathological findings are described and the importance of this zygomycete as the cause of systemic mycosis is discussed.

*Palabras claves:* micosis sistémica, *Mortierella wolfii*, bovino.

*Key words:* bovine systemic mycosis, *Mortierella wolfii*.

### INTRODUCCION

En medicina, las enfermedades micóticas se dividen en superficiales (dermatomicosis) y sistémicas (Thompson, 1988; Chihaya y col., 1991; Chihaya y col., 1992). La mayoría de las micosis sistémicas son provocadas por hongos saprófitos considerados como oportunistas. Usualmente, el pulmón es el sitio primario de infección (Thompson, 1988; Chihaya y col., 1992). La piel y el tracto gastrointestinal son también importantes vías de acceso para muchas micosis sistémicas en animales domésticos (Thompson, 1988; Jensen y col., 1991; Chihaya y col., 1992). Entre los agentes etiológicos mayormente citados como causantes de micosis sistémicas se encuentran *Aspergillus sp*, *Cryptococcus neoformans*, *Histoplasma capsulatum*, *Candida albicans* y los hongos del

Filo Zygomycota (Thompson, 1988; Chihaya y col., 1991; Chihaya y col., 1992; Jensen y col., 1994).

En Australia y Nueva Zelandia se ha reportado *Mortierella wolfii* como importante agente de micosis sistémica en bovinos (Jensen y col., 1994) y, a su vez, se ha mencionado como causa de aborto y neumonía (McDonald y Corbel, 1981; Neilan y col., 1982; McCausland y col., 1987). Especialmente en el norte de Nueva Zelandia constituye la principal causa de micosis sistémica (Neilan y col., 1982) y, en el sureste de Australia, es un agente relevante de aborto (McCausland y col., 1987).

El objetivo del presente trabajo es describir los hallazgos clínicos, micológicos y patológicos del primer caso descrito en Costa Rica de una micosis sistémica causada por *Mortierella wolfii*.

**HISTORIA CLINICA.** Se trata de un bovino, hembra, de raza Holstein, con tres años y medio

de edad, el cual en el momento de la ordeña presentó fiebre. Inicialmente, se le aplicaron 30 cc de oxitetraciclina (Emicina®)<sup>a</sup> y 1 cc de aminobenceno, diacetato (Berenil®)<sup>b</sup> intramuscular. La dosis se repitió durante los siguientes dos días. También se le trató con complejos vitamínicos, estimulantes de la hematopoyesis (Aricil®)<sup>c</sup>, hierro y hepatoprotectores (Hematopan B<sub>12</sub>®)<sup>d</sup> junto con dexametasona (Dexametasona®)<sup>e</sup> y antihistamínicos cada dos días. Además presentó paro ruminal, por lo que se usó microflora ruminal.

Al sexto día de haberse iniciado el cuadro clínico, la paciente continuaba débil, con inapetencia y las mucosas externas pálidas, por lo que se decidió realizar una transfusión sanguínea (3 litros); al séptimo día se repitió la dosis y, al octavo día, se le transfundieron cinco litros más con sangre total.

Como al noveno día el animal no había mejorado, fue remitido al Hospital Veterinario de la Universidad Nacional de Heredia, con un diagnóstico presuntivo de anaplasmosis. Al examen físico, presentaba depresión en sus movimientos corporales y regular condición general; la temperatura era de 39.5°C, el pulso de 68/min., la frecuencia respiratoria de 44/min., tenía un 6% de deshidratación y las mucosas se hallaban ictericas. El mismo día de internamiento se le realizaron exámenes de sangre, orina y heces, y se obtuvieron los siguientes datos relevantes: hematocrito 19%, hemoglobina 4.8 g/dl, C.H.C.M. 26 g/dl, leucocitos 37.200 mm<sup>3</sup>, neutrófilos segmentados 65%, en banda 1%, linfocitos 34%. Además, se reportó la presencia de *Anaplasma sp.* En el examen al fresco del sedimento urinario se observó un aumento de la flora bacteriana. Mediante el examen coprológico, con la técnica de sedimentación, se encontraron larvas de *Strongyloides sp.*, así como huevos de *Trichuris sp.*

Durante los siguientes días y hasta su muerte natural, se le controlaron la temperatura, el pulso y la frecuencia respiratoria con los siguientes

promedios: temperatura: 38.6°C; pulso: 85.78/min. y frecuencia respiratoria: 24.5. Durante esos mismos días se le controló el hematocrito, cuyos valores oscilaron entre 11.0% y 17.0% (promedio 14.75%). Dos días antes de su muerte se le extrajo líquido cefalorraquídeo, del cual se reportaron los siguientes resultados: color: incoloro; aspecto: turbio; PH: 8.0; glucosa: 75 mg/dl; proteínas: trazas; sangre: positivo, con 260 eritrocitos/mm<sup>3</sup> y 0% de crenocitos.

Durante los nueve días de internamiento se le administró tratamiento a base de Emicina®<sup>a</sup> Berenil®<sup>b</sup> y Pregazol®<sup>f</sup> (estimulante cardiovascular), todos por vía intramuscular. Además, durante cuatro veces se utilizó la Dexametasona®<sup>e</sup> por la misma vía, con dosis de 10 cc en cada inyección.

**HALLAZGOS MACROSCOPICOS.** En general, el pulmón, el hígado, el bazo y el corazón mostraban múltiples nódulos de diámetros variables desde 0.4 cm a 2.0 cm, los cuales eran de color blanco, de consistencia suave al tacto y con bordes bien delimitados. En la superficie de corte, estos nódulos secretaban un material cremoso-purulento. Además, en las regiones cranioventrales, el pulmón tenía, de forma difusa, un incremento de la consistencia, con marcado aspecto lobulillar y coloración rojo-oscuro.

La tráquea, los bronquios y las demás vías respiratorias presentaban secreción de material blanquecino con aspecto espumoso.

En las áreas no necróticas, el hígado tenía una coloración amarillenta difusa y era suave al tacto. El bazo, además de necrosis, presentaba aumento de tamaño.

Los riñones también estaban aumentados de tamaño, friables al tacto, con múltiples focos de color blanquecino de hasta 1.0 cm de diámetro, localizados principalmente en la zona cortical.

Había una linfadenopatía generalizada, con hiperplasia folicular, la cual drenaba líquido (linfa) al presionarla.

**HALLAZGOS MICROSCOPICOS.** *Corazón.* Presentaba extensas zonas de necrosis, cuyos bordes mostraban inflamación crónica con proliferación de tejido conectivo; el infiltrado inflamatorio era mixto, con predominio de histiocitos, linfocitos y células plasmáticas. En estas zonas de necrosis, se observó, además, una

<sup>a</sup> Emicina®, Pfizer, S.A. División Ag. Vet., Costa Rica.

<sup>b</sup> Berenil®, Química Hoechst de Guatemala.

<sup>c</sup> Aricil®, Bayer Centro, para Químicas Unidas, El Salvador.

<sup>d</sup> Hematopan®, Fort Dogge-Nova S.A. de C.V., México.

<sup>e</sup> Dexametasona®, c/ml tiene 2 mg de dexametasona. Alcomes Laboratorios Químicos de C.A.S.A., Costa Rica.

<sup>f</sup> Pregazol®, Química Hoechst de México, S.A.

marcada trombosis. También se encontró calcificación de algunas miofibrillas.

**Hígado.** Se encontraron áreas de necrosis, a veces de aspecto coagulativo; el infiltrado inflamatorio era parecido al descrito para el corazón, pero con menos fibrosis.

Asimismo, este órgano mostró, en las zonas no necróticas, una marcada colestasis y colangiohepatitis crónica con formación de uniones fibrosas entre los espacios porta. También se observó proliferación de conductos biliares, megalocitosis y trombosis. Había degeneración globular difusa de los hepatocitos y hemopoiesis extramedular.

**Pulmones.** Se observaron diferentes áreas de necrosis, con las mismas características ya descritas; los vasos sanguíneos inmersos en las zonas necróticas se encontraron trombados. Las partes del parénquima pulmonar adyacentes a la necrosis mostraron un proceso neumónico tipo catarral.

**Bazo.** Se evidenciaron las mismas zonas necróticas descritas para el corazón, el hígado y el pulmón, además de la vasculitis. El resto del parénquima presentó una reacción celular, con polimorfonucleares, células en diferentes estados de diferenciación y abundantes megacariocitos; también se encontró hemosiderosis.

**Linfonodos.** Presentaron una marcada hiperplasia de los centros germinativos, con abundantes células reticulares, megacariocitos y hemosiderosis.

**Riñón.** Este órgano mostró una moderada glomerulopatía membrano-proliferativa y difusa. También presentó las mismas zonas de necrosis descritas para los anteriores órganos parenquimatosos.

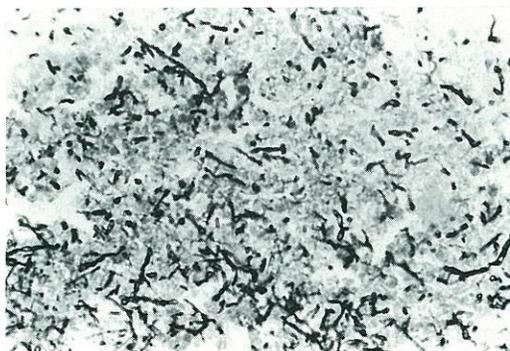
En todos los órganos parenquimatosos afectados (corazón, hígado, pulmón, bazo y riñón) a la observación microscópica, tanto con la tinción de Hematoxilina-Eosina (H.E.) como Grocott-gomori, se encontraron, inmersos en las áreas necróticas, abundantes filamentos macrosifonados, de 4 a 7 micras de diámetro, no septados, de paredes finas e irregulares, con ramificaciones asimétricas. Esta morfología microscópica concuerda con el aspecto morfológico descrito para los cigomicetes (fotos 1 y 2)

**HALLAZGOS MICOLÓGICOS.** El material patológico fue inoculado en medios de Sabouraud glucosado simple, sin antibióticos, los cuales



**Foto 1.** Pulmón: se observa una zona de necrosis con algunas células inflamatorias. Inmersas en la necrosis se encuentran estructuras filamentosas. Tinción H.E.

Lung: a central necrotic area as observed with few inflammatory cells. Several filamentous like hyphae are seen. H.E.



**Foto 2.** Pulmón: se observa gran cantidad de hifas macrosifonadas no septadas. Tinción Grocott-gomori.

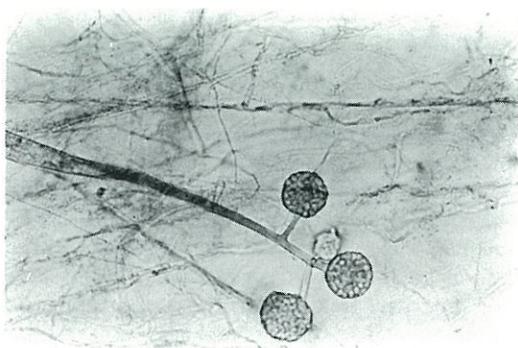
Lung: many irregular nonseptate hyphae are observed. Grocott-gomori.

fueron incubados a temperatura ambiente (24°-27 °C) y se logró aislar siempre un mismo agente micótico, con las siguientes características: el crecimiento se inicia entre el tercer y cuarto día de incubación, como una masa filamentosa blanquecina, que se extiende rápidamente y cubre todo el medio de cultivo. Mediante la observación microscópica, solamente se visualizaron hifas macrosifonadas, no septadas, con un diámetro que varía entre 3 y 6  $\mu\text{m}$ . No presentó ningún tipo de estructura reproductora. Se realizaron subcultivos en medio de agar agua (agar 2%, agua destilada) y Czapek, los cuales fueron nuevamente incubados a temperatura ambiente

durante cinco días. Las observaciones microscópicas efectuadas a estos subcultivos permitieron detectar esporangioforos que crecían de hifas aéreas y emergían de ramas filamentosas cortas. Cada rama terminaba en un esporangio. El esporangio era globoso, liso, con paredes grises y frágiles. No presentó columella. Las endosporas son lisas, incoloras y de forma elipsoidal o reniforme. Con base en estas características, el hongo fue clasificado como *Mortierella wolfii* (foto 3).

## DISCUSION

Las micosis sistémicas son infecciones causadas principalmente por hongos saprofitos, considerados como oportunistas, sobre todo cuando el huésped es sometido a grandes dosis de antibióticos de amplio espectro o drogas esteroideas durante períodos prolongados (Thompson, 1988; Chihaya y col., 1991; Jensen y col., 1991; Chihaya y col., 1992). El pulmón es la principal puerta de entrada del microorganismo (Thompson, 1988); sin embargo, se han considerado la vía cutánea y la digestiva (Thompson, 1988; Jensen y col., 1991). En medicina veterinaria la vía más estudiada ha sido la digestiva, especialmente en micosis sistémicas causadas por *Aspergillus sp* o miembros del orden Mucorales (Jensen y col., 1991; Chihaya y col., 1992). En el caso reportado en el presente estudio, no se pudo determinar la puerta de



**Foto 3.** Cultivo: se observa el aspecto microscópico de *M. wolfii*, el cual muestra esporangios característicos de este hongo.

Culture: showing the microscopic aspect of a sporangium.

entrada. La circunstancia de encontrar trombosis micóticas con compromiso hepático, cardíaco, pulmonar y esplénico sugiere una diseminación hematológica, en la cual la puerta de entrada pudo haber sido la gastroentérica (Jensen y col., 1991).

Es bien conocido que el uso de antibióticos de amplio espectro y drogas esteroideas aplicadas durante períodos prolongados, al igual que el empleo de otras drogas quimioterapéuticas e inmunosupresoras, incrementa las infecciones por hongos oportunistas (Chihaya y col., 1991; Jensen y col., 1991; Chihaya y col., 1992). Esta paciente fue tratada, durante los 16 días de su padecimiento, con oxitetraciclinas y aminobenzeno diacetato. Además, se le aplicó dexametasona en seis ocasiones durante toda su enfermedad. Probablemente el antibiótico más la dexametasona causaron un estado de baja de defensas, lo cual coadyuvó a la presentación sistémica de la micosis. El cuadro microscópico de degeneración hepática de aspecto globular encontrado en las zonas no necróticas es característico de una hepatopatía inducida por esteroideos, lo que refuerza la hipótesis de la inmunosupresión en este animal. La paciente, por su enfermedad primaria de anaplasmosis tuvo siempre un hematocrito muy bajo, con un promedio de 16.87% (normal  $32.76 \pm 0.83$ ) y una hemoglobina de 4.8 g/dl (normal  $11.01 \pm 0.34$ ).

A pesar de que existen en la literatura diversas opiniones referentes a la inconveniencia de clasificar las micosis con base en su morfología microscópica de luz (McCausland y col., 1987; Jensen y col., 1994), ésta es la que permite una clasificación adecuada (McCausland y col., 1987). El agente aislado en el presente caso mostraba las características histopatológicas y culturales de un zigomicete, el cual fue identificado, de acuerdo con sus aspectos micológicos, como *Mortierella wolfii* (McDonald y Corbel, 1981; Neilan y col., 1982; Seviour y col., 1987).

Las micosis sistémicas en bovinos poseen usualmente, como etiología, hongos del Filo Zygomycota, orden Mucorales, entre otros. Entre ellos, las especies más frecuentemente aisladas son: *Absidia corymbifera*, *Rhizopus oryzae* y *Rhizomucor pusillus*. También, en estas micosis sistémicas son importantes las especies del género *Aspergillus sp* (Chihaya y col., 1992; Jensen y col., 1994). En Australia y Nueva Zelanda, muchas de las zigomicosis sistémicas son

causadas por *Mortierella wolfii*, de la familia *Mortierellaceae* (Jensen y col., 1994), que, a su vez, ha sido asociada como causa de abortos (McCausland y col., 1987; Johnson, 1990) y un síndrome de abortos y neumonías (McDonald y Corbel, 1981; Neilan y col., 1982).

## RESUMEN

Con base en los hallazgos clínicos, micológicos y patológicos, se describe una micosis sistémica en un bovino, causada por *Mortierella wolfii*. El bovino, hembra, de raza Holstein, tenía tres años y medio. La paciente cursó inicialmente con una anaplasmosis, la cual fue tratada, principalmente, con antibióticos de amplio espectro y dexametasona, lo que, probablemente, condicionó una inmunosupresión con consecuente micosis sistémica, que afectó el corazón, el pulmón, el hígado, el bazo y el riñón.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Cátedra de Clínica por haber facilitado el expediente. Asimismo, al Dr. Leonel Mendoza quien realizó el aislamiento primario.

## BIBLIOGRAFIA

- CHIHAYA, Y., Y. FURUSAWA, H. OKADA, K. MATSUKAWA, Y. MATSUI. 1991. Pathological studies on systemic mycosis in calves, *J. Vet. Med. Sci.* 53(6): 1051-1058.
- CHIHAYA, Y., H. OKADA, K. MATSUKAWA, Y. MATSUI. 1992. Disseminated mycoses in cattle. A study on nine autopsy cases, *J. Vet. Med. Sci.* 54(3): 485-491.
- JENSEN, H.E., H. SCHØNHEYDER, A. BASSE. 1991. Acute disseminated aspergillosis in a cow with special reference to penetration and spread, *J. Comp. Path.* 104: 411-417.
- JENSEN, H.E., B. HAALBAEK, H. SCHØNHEYDER. 1994. Immunohistochemical identification of aetiological agents of systemic bovine zygomycosis, *J. Comp. Path.* 110: 65-77.
- JOHNSON, C.T. 1990. *Mortierella wolfii* abortion in british cow, *Vet. Rec.* 127: 363.
- KIRKBRIDGE, C.A. 1992. Etiologic agents detected in a 10 years study of bovine abortions and stillbirths, *J. Vet. Inv.* 4: 175-180.
- MCCAUSLAND, I.P., K.S. SLEE, F.S. HIRST. 1987. Mycotic abortion in cattle, *Aust. Vet. J.* 64: 129-132.
- MCDONALD, S.M., M.J. CORBEL. 1981. *Mortierella wolfii* infection in cattle in Britain, *Vet. Rec.* 109: 419-421.
- NEILAN, M.C., I.P. MCCAUSLAND, M. MASLEN. 1982. Mycotic pneumonia, placentitis and neonatal encephalitis in dairy cattle caused by *Mortierella wolfii*, *Aust. Vet. J.* 59: 48-49.
- SEVIOUR, R.J., A.L. COOPER, N.W. SKILBECK. 1987. Identification of *Mortierella wolfii*, a causative agent of mycotic abortion in cattle, *J. Med. Vet. Mycol.* 25: 115-123.
- THOMPSON, R.G. 1988. Special Veterinary Pathology. Chapter 1, pág. 33. B.C. Decker Inc. Toronto.

