

FOTODESIBILIZACION HEPATOGENA EN BOVINOS.-

Jornadas de Buiatría. I Latinoamericanas. II Uruguayas
19 al 21 de junio de 1974 - Paysandú, Uruguay

DR. FERNANDO RIET. M. Sc. TOXICOLOGIA. SUBPROGRAMA DIAGNOS--
TICO. PROGRAMA DE PATOLOGIA. C.I.V. " MIGUEL C. RUBINO ".-

DR. LUIS E. DIAS. TECNICO ADJUNTO D.I.L.F.A.-

El motivo del presente trabajo es comunicar la comprobación por primera vez en el Uruguay del hongo *Pithomyces chartarum* (Berck & Curt M.B. Ellis en praderas asociado con un cuadro de fotosensibilización hepatógena en bovinos.-

Ubicación del establecimiento: en el departamento de Colonia, Paraje: Estación Estanzuela.-

Visita realizada al mismo por los Dres. Joaquín Días, Luis E. Días Denis Gaymonat, Marco Podestá, Fernando Riet.-

Historia Clínica.-

- Superficie total del establecimiento: 200 cuadras.-
- Existen en el dos tipos de producción bien definidas: leche y carne.-
- Para la producción de leche se poseían: 22 vacas en producción, 54 vacas y vaquillonas secas, 17 terneras y 8 terneros.-

Para la producción de carne - engorde de novillos tenía una dotación de 46 novillos y 2 vacas con ternero, siendo los novillos Holando Shorthorn y cruce Holando con Shorthorn.-

Motivo de consulta. La sospecha de parte del productor de tener aftosa, luego de la vacunación antiaftosa, vacunación ésta que se había realizado ocho días atrás al día que nota el primer animal enfermo

Animales afectados. Animales destinados a la producción de carne, que se encontraban en una pradera a base de rye-grass, tréboles rojo, blanco y lotus sp; destacándose el rye-grass como el pasto dominante.-

Extensión de la pradera: 16 cuadras, estando ubicada en una zona alta; como sombra tiene un monte de eucaliptus, cortado 3 años atrás, siendo la aguada artificial.-

Los animales permanecieron en ella 20 días, estando el tapis vegetal alto y abundante. Al retirarlos animales encuentra algunos con "sialerrea".-

El ganado de leche no tuvo acceso a esta pradera, en ninguna oportunidad.-

Toda la hacienda había sido vacunada contra la Fiebre Aftosa el 19/4, y en febrero había sido vacunada contra la clostridiosis, enfermedad que manifiesta haber tenido. No se habían registrado entradas de animales de otras procedencias. No se había efectuado balneaciones

//

ni dosificaciones.-

Condiciones climáticas.

Resumen meteorológico. M.G.A. Centro de Investigaciones Agrícolas "Alberto Boerger". Estación Experimental "La Estanzuela", para el Departamento de Colonia.-

AÑO 1973.

<u>Mes</u>	<u>Temp. media</u> o.C	<u>Lluvias</u> mm.	<u>Humedad relativa</u>
Enero	22,2	153,6	73 %
Febrero	21,4	236,5	79 %
Marzo	21	89,2	80 %
Abril	14,4	189,1	84 %
Mayo	12,9	9,2	81 %
Junio	12	116,5	85 %
Julio	9,6	117,8	88 %
Agosto	10,5	7,7	73 %
Octubre	15,9	110,6	76 %
Noviembre	16,9	61,6	63 %

Resumiendo del cuadro expuesto, la temperatura media del mes de enero al mes de mayo, osciló de 22,2 oC a 12,9 oC; las lluvias sumaron un total de 677,6 mm; la humedad relativa de 84 a 73 %.-

Casi todos los animales que estaban en la pradera enfermaron, menos 4 novillos. La tasa de morbilidad se situó en el 92 %.-

Respecto a la vacunación contra la Fiebre Aftosa, las 2 vacas que habían sido vacunadas enfermaron, incluso una de ellas se sacrificó a los efectos de realizar la autopsia, y sus 2 terneros no vacunados también enfermaron.-

<u>Animales según categoría</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Nº de enfermos</u>	<u>Morbilidad</u>	<u>Mortal.</u>
Novillos	46	42	92 %	6,5 %
Vacas	2	2		
Terneros	2	2		

Sintomatología.

Animales con sialorrea: la baba blanca-espumosa, limitada a las comisuras labiales, ictericia, conjuntivitis (purulenta en algunos casos) con cierre de los párpados, blefaritis, lagrimeo, rinitis con descamación del epitelio del morro, corrimento nasal claro, se laman

//

los ollares, lengua de aspecto saburral, presenta pérdida de epitelio en la punta y parte antero-ventral. Lesión en la mucosa del rodete dentario con pérdida de epitelio. Orejas con costras en las zonas expuestas al sol, apergaminadas; la piel en la región dorso lumbar y en los flancos, a la palpación, se observa que se desprende del subcutáneo, más manifiesto en las zonas no pigmentadas, también se observó esto en los animales Shorthorn colorados. Edema subcutáneo en algunos animales, en cuello y cara ventral de abdomen. Anorexia, heces oscuras, duras de aspecto brillante, (recubierta de mucus). Defecación normal con tendencia a la constipación.-

Anatomía Patológica.

Vaca Shorthorn. Edad: 7 años.

Apariencia externa: buen estado de carnes. Mucosas ictericas. Edematosas y de tinte icterico.

Ganglios linfáticos sin particularidades.

Aparato digestivo: mucosa gingival y bucal con tinte icterico. Pérdida de epitelio en bordes, punta; cara ventral de lengua y rodete dentario.

Rumen y contenido: s/p.

Hígado: bordes redondeados, tamaño aparentemente normal, muy friable, color marrón claro amarillento (ladrillo). Cruje al corte y se observan las paredes de los conductos biliares algo espesadas y en su luz presenta una arcilla de color amarillento. Vesícula biliar con un contenido gelatinoso de color verde oscuro.

No se observan distorsiones.

Aparato urinario: riñones amarillentos, decapsulan fácilmente. Cortical amarillo-anaranjada, medular rojo oscuro. Vejiga con orina de color pardo, mucosa con petequias.

Sangre: roja clara y coagula. Bazo tamaño normal a menor. Duro a la palpación, al corte resulta fibroso. En la superficie capsular, los capilares están injurgitados en focos.

Petequias en los epíplones, con color amarillentos de los mismos.

Congestión en los vasos mesentéricos e intestino delgado en su porción terminal, con algunas zonas de hemorragia.

Aparato respiratorio: pulmón color normal, con zonas de enfisema.

Corazón: s/p.

Aparato locomotor: s/p.

Sistema nervioso: s/p.

//

Tratamiento.

Los animales se retiraron de la pradera, no enfermando ninguno más. Se recomienda el suministro de Gluconato de calcio al 50 % protectores hepáticos tihistamínicos y tetraciclina.-

Diagnóstico.

Basados en la anamnesis zonal y del establecimiento, de acuerdo a los síntomas y lesiones observadas en la piel y mucosas, estamos en presencia de un caso de FOTSENSIBILIZACION.

Por la presencia de ictericia, fotosensibilización, edemas, depresión, anorexia, y a las lesiones hepáticas observadas en la autopsia, comprobamos la existencia de una injuria, hepática, pudiendo decir que se trata de un cuadro de FOTSENSIBILIZACION HEPATOGENA.-

De acuerdo al diferencial establecido, dicho cuadro está directamente asociado con la PRADERA sospechando que la posible etiología, sea una MICOTOXICOSIS.

Diagnóstico diferencial.

Considerando la presencia de sialorrea correspondo un diferencial con: fiebre aftosa y otras enfermedades vesiculares. Clínicamente y por Laboratorio, se descartaran estas enfermedades.-

Por la ictericia:

a) Leptospirosis: siembras en medio Fletcher, inoculación de cobayos con sangre y orina: negativo. Presencia de títulos de leptospira en algunos animales sanos y enfermos. b) Hemoglobinuria bacilar. c) Piroplasmosis, Anaplasmosis: no hay garrapata, frotis de sangre negativos. d) Intoxicación crónica por cobre relacionada con el trébol subterráneo.-

Hepatitis tóxicas:

per tóxicos inorgánicos (fósforo, arsénico, selenio), orgánicos (tetracloruro de carbono, hexaclorostano, plantas tóxicas "lupinos").

Hepatitis parasitaria: fasciolosis.

Otras causas de fotosensibilización: plantas sospechosas tóxicas: Ammi viznaga, Ammi majus (cicuta negra), Myoporum lactum (transparente), por rastrojo de remolacha azucarera (posible etiología fúngica).-

Otras enfermedades de la piel: alergia p st vacinal, dermat-

micosis, (tiña), dermatofilosis, ectoparasitosis.-

Recidiva.

El 24 de agosto de 1973, se concurre al establecimiento, ya que el productor consulta al tener el mismo problema.-

La pradera tuvo un período de descanso de 2 meses. Los animales entraron en la pradera el 22 de julio. Antes de ponerlos en la pradera bañó con ectoparasiticina y vacunó contra la Fiebre Aftosa toda la hacienda el 1º de agosto de 1973.-

<u>animales según categoría</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Nº de enfermos</u>	<u>Morbilidad</u>	<u>Mortal.</u>
Novillos Shorthorn, Holandes y cruce.	62	52	84 %	0 %

A los 21 días de estar en la pradera comenzaron los síntomas y es importante destacar que el 100 % de los animales que enfermaron en la primera oportunidad recidivan, enfermando ahora por segunda vez.-

La sistemología observada es exactamente la misma de la primera oportunidad.-

Se tomaron muestras de pastos y panes de tierra de la pradera con ryegrass, tréboles rojo, blanco y lotus.

Luego de esta recidiva se concurre al establecimiento el 29/8, 5/9, 17/9, 1º/10, para tomar muestras de pradera, para buscar hongos tóxicos en la misma.-

Análisis de Laboratorio. (Bovinos enfermos (novillos).-

	<u>Bovino 1</u>	<u>Bovino 2</u>	<u>Bovino 3</u>	<u>Bovino 4</u>
Hematocrito	37 %	44 %	42 %	44 %
hemoglobina	---	12 grs.	12 grs.	12,5 grs.
Erirocitos	5:310.000	7:840.000	8:210.000	9:120.000
Leucocitos	9.150	11.000	11.000	10.000
NEUTROFILOS	27 %	30 %	25 %	24 %
MONOCITOS	6 %	5 %	6 %	4 %
linfocitos	65 %	60 %	63 %	64 %
Eosinofiles	2 %	4 %	6 %	8 %
Basofiles	0 %	1 %	0 %	0 %

Frotis de sangre: No se observaron Hematozoarios.-

//

COMPROBACION DE LA PRESENCIA DE PITHOMYCES CHARTARUM EN ESTA
PRADERA.-

Introducción.-

Pithomyces chartarum (Berk & Curt) M.B. Ellis es un hongo saprófito cosmopolita perteneciente a *Dematiaceae*, *fungus imperfecti*, distribuido en regiones del mundo templadas, subtropicales y tropicales (1), (2), (6) y (15).-

Este hongo, también denominado *Sporidosmium bakeri* (Syd), es el agente causal del eczema facial en Nueva Zelandia (1) (2) (16).-

El eczema facial es una enfermedad caracterizada por hepatitis y fotosensibilización en ovinos y bovinos (11) (12).-

Patogenia de la enfermedad: *Pithomyces chartarum* contiene en la conidias (esporas), una micotoxina, la esporidiesmina, que produce hepatitis tóxica aguda y obstrucción biliar con insuficiencia hepática grave, que se manifiesta por pérdida del estado general, ictericia y fotosensibilización. El agente fotodinámico es la filocitrina, producto metabólico normal de la clorofila, que es retenido en los tejidos por dificultad de su exoneración a través de los conductos biliares e hígado lesionados (1) (9) (5) (13) (14).

Se ha registrado este padecimiento más comúnmente en Nueva Zelandia y también Australia.-

Ellis (1960) afirmó que el hongo se encuentra presente en hojas muertas de diferentes plantas: *Lolius spp* (rye-grass), *Lotus spp*, *Trifolium repens*, *T. Pratense*, *Festuca arundinacea*, *Plantago* (6) (15).-

Concurrencia. El eczema facial ocurre en gran escala cuando abundan hojas muertas durante tiempo húmedo y cálido, que favorece la invasión masiva del hongo (2) (7) (3).-

Suele presentarse este problema en otoño, después de veranos cálidos y secos, cuando caen lluvias copiosas sobre el terreno todavía caliente. En tales casos, crece en forma acelerada tanto la hierba como el hongo (1) (6) (10).-

Comprobación en el Uruguay. Materiales y Métodos.

El caso que estudiamos se nos presentó el 30 de abril de 1973.-

El 28 de diciembre de 1973, a los 8 meses, comprobamos por primera vez en el Uruguay, la presencia de esporas y micelios del hongo *Pithomyces chartarum* en hojas muertas de rye-grass y tréboles en muestras //

de la pradera, en observación microscópica.-

Previo pasaje por cámara húmeda (48 hs.), de un pan de pradera, se pusieron en porta-objetos trocitos de hojas muertas de rye-grass, tréboles, lotus, con agua destilada y con aumento seco de 100, 400 y 600 diám. (10 x 10, 10 x 40, 10 x 60) se observaron las conidias características del hongo, así como micelios.-

Aislamiento del Hongo.

El 15 de marzo de 1974, se realizó por primera vez el aislamiento y cultivo del hongo *Pithomyces chartarum*, en medio de cultivo de papa-Dextrosa-Agar (caja de petri).-

Método utilizado: bajo observación microscópica (aumento seco 100 diám.) con la punta de una aguja embebida en goma arábiga (por la propiedad de ser adherente), se retiraron conidias de los frotis con trocitos de rye-grass, en agua destilada y se sembraron en placas de P.D.A. con un solución de penicilina-estreptomicina como inhibidor de bacterias.-

A los 20 días se observó la presencia de conidias de P.C. en una colonia de unos 2 cms. de diámetro, de color negro de crecimiento chato y adherente al medio de cultivo.-

No se hizo la técnica más común de aislamiento de los hifas con las correspondientes conidias en los pastos, porque la pradera en el momento en que se realizó el aislamiento del hongo, estaba poco contaminada.-

El método de las diluciones no nos resultó práctico de aplicar debido a la presencia de otros hongos contaminantes de crecimiento rápido, que enmascaraban el P.C. presentes en los pastos.-

Morfología. Carácteres de cultivo.

Las conidias varían en su forma de 16-35 x 13-20 y generalmente con 3 divisiones transversales a veces 4 y 2 a 4 divisiones longitudinales.

Las conidias maduras son típicamente pigmentadas a veces equinuladas, generalmente con 3 septos transversales y con 0 - 2 septos longitudinales.-

Los conidióferos se elevan en ángulo recto del micelio basal. Ellos son cortos, 3-20 x 1,5-3 u, hialino, con paredes finas y generalmente no septado. Cada conidiófero soporta u a sola conidia. Una vez maduras

//

las conidias se desprenden del conifióforo, quedando unida a estas un pedazo de tejido de la pared del conifióforo. El conifióforo, se colapea, pero permanece unido al micelio basal.-

En los cultivos en P.D.A. el micelio puede presentarse ligeramente coloreado o hialino, con hifas septadas de pared fina, 2 -4,5 μ de diámetro, algunas veces volviéndose verrucosa y ligeramente pigmentada.-

Hifas de pared fina, de color marrón oscuro con numerosas septas transversales.-

Las colonias fueron zonales, de crecimiento chato, a veces floccosas, volviéndose negras a medida que los cultivos tienen más edad, llevando a la formación de un micelio pigmentado y conidias (6) (15).-

Período de incubación.

El hongo se siguió cultivando en Papa-Dextrosa-Agar (200 grs. de papa, 20 grs. de dextrosa, 12 grs. de agar, 1 gr. de extracto de levadura, 1.000 ml. de agua, pH 5,8) en Papa-Zanahera-Dextrosa-Agar (150 grs. de papa y 50 grs. de zanahoria y todo lo demás igual al anterior), con agentes inhibidores de bacterias; penicilina, estreptomycinina y ácido láctico al 2 %.-

En estas condiciones P.C. lleva de 10 días a 40 días en formar las conidias desde el momento de la siembra (6) (15).-

Temperatura de incubación: 24° C. (en estufa).-

Correspondencia y cultivos recibidos de Nueva Zelanda.-

Una vez que reconocimos de acuerdo a la bibliografía, las esporas de P.C. en los paños de pradera, escribimos a Nueva Zelanda, para informar al respecto y pedir cultivos para comparar con los nuestros.-

Dingley J.M. y Brock P.J., Plant Diseases División, Department of Scientific and Industrial Research, Auckland, nos comunicaron que no les extrañaba la presencia de P.C. en Uruguay, y nos enviaron cultivos donde comprobamos la misma morfología y caracteres de los nuestros.-

Cuenta de esporas en la pradera.

De acuerdo a la técnica de Thornton y Sinclair (14).-

Veinticinco gramos de pastos de la pradera se cortan a 1 cm. de la tierra; luego se agregan 250 ml. de agua destilada (o corriente) más 1 gota de tcepel (detergente) y se sacude vigorosamente durante 1 minuto.

//

Luego se pasa a través de una tamiz de 2 mm. Luego las cuenta de esporas de P.C. se hace en una cámara de Neubauer. Se cuentan los 5 cuadrados (1 mm^2).-

La cuenta se expresa en unidades de 100.000 esporas por gr. de pasto seco.

De acuerdo a los trabajos de Nueva Zelanda, praderas tóxicas tuvieron una cantidad de aproximadamente 13×10^5 esporas por gramo de pasto seco congelado, mientras que en praderas que no resultaron tóxicas se encontraron cuentas de alrededor de $0,7 \times 10^5$ esporas por gramo de pasto seco congelado.-

Cuenta de esporas al 15 de febrero de 1974, de nuestra pradera.

(Al año de haber aparecido el caso en un momento en que la pradera no era tóxica). El trozo de pradera se dejó previamente 3 días en cámara húmeda. Cuenta= 2×10^5 esporas por gr. de pasto verde. Cantidades que están de acuerdo a las obtenidas en Nueva Zelanda para praderas que en ese momento no resultaban tóxicas.

21 de febrero de 1974. Conteo. Pradera Perrachón. 4×10^5 esporas por gr. de pasto verde.

Otros antecedentes.

En Yeng. En julio - Agosto 1973, En un campo experimental de la C.I.A. "Alberto Boerger". Fotosensibilización hepatógena en bovinos en pradera de rastrojo de trigo con falaris, trébol blanco, lotus. Se observó la presencia de Pithomyces chartarum en hojas muertas. Hubo recidiva.

Total de animales= 24 - Enfermos= 18 - Raza Hereford.

El 22 de febrero de 1974. se hizo recuento de esporas, dando un valor de 4×10^5 esporas por gramo. (Se realizó a los 6 meses de la aparición de los casos).

Conclusiones.

De acuerdo al cuadro clínico presentado de fotosensibilización hepatógena, a las condiciones climáticas de abundantes lluvias y temperatura elevada, a la asociación de la enfermedad con la pradera y a la presencia en ésta del hongo Pithomyces chartarum, pensamos que sea éste el agente etiológico de esta enfermedad.-

Prosiguen los estudios de la toxicidad de la cepa de Pithomyces

//

chartarum aislada, así como de la cantidad de esporas de este hongo presentes en las praderas en nuestro país para poseer más datos con fines de diagnóstico.-

Colaboraciones recibidas.

La srta. Rosa Dios, Ayud. Técnico, por su valiosa colaboración en la marcha de la investigación. Los Sres. Alejandro Gonzalez, Auxiliar Técnico y Luis A. Venner Ayudante Técnico, en la preparación de los medios de cultivo.-

Agradecimientos.

Al Prof. Juan E. Mackinnon en Micología, el Instituto de Higiene, por los datos y consejos aportados en las investigaciones micológicas. También al Dr. Eduardo Civita por toda la colaboración recibida.-

Al Subprograma de Fitopatología de la C.I.A. "Alberto Boerger", reflejando en la personas de los Ings. Agrs. Carlos Rava y Carlos Perca, al equipo correspondiente, que nos facilitó muchos datos referentes a la metodología a seguir.-

Literatura citada.

- (1) BLOOD, D.C. and HENDERSON. Medicina Veterinaria. Traducido al español por Fernando Colchero. 3 ed. México. Interamericana. 1969. 923 p.
- (2) BROOK, P.J. Ecology of the Fungus *Pithomyces* (Berck & Curt) M.B. Ellis in pasture in relation to Facial Eczema Disease of sheep. N.Z.J. Agric. Rec. 6 (3 & 4): 147-228.-
- (3) BROOK, P.J. A volumetric spore trap for sampling pastures. N.Z.J. Agric. Res. 2:690.693. 1959.-
- (4) BROOK, P.J. and MUTCH G.V. Field control of Facial Eczema of Sheep. N.Z.J. Agric. Rec. 7:135-145 1963.-
- (5) CRAWLEY, W.E. et al. Characteristic lesions of Facial Eczema produced in sheep by dosing material containing *Pithomyces chartarum* collected from pasture. N.Z.J. Agric. Res. 4:552.559 1961.-
- (6) DINGLEY J.M. *Pithomyces chartarum*, its occurrence, morphology and taxonomy. N.Z.J. Agric. Res. 5:49-61 1962.-
- (7) DREW SMITH, J. et al. Seasonal variation in spore numbers of *Pithomyces chartarum* in 1960 and 1961 in the Waikato. N.Z.J. Agr. Rec. 4:538.551.-
- (8) DREW SMITH J. et al. Collection and concentration of spores of *Pithomyces chartarum* from herbage and harvesting from Ryecorn cultures. N.Z.J. AGRC. RES. 4:725.733 1961.-

//

- (9) MC FARLANE et al. photosensitivity Diseases in New Zealand. The Pathogenesis of facial Eczema. N.Z.J. Agric. Res. 2:194-200 1958.
- (10) MITCHELL et al. Factors influencing the growth of Pithomyces chartarum in pasture. N.Z.J. Agric. Res. 4:566.577 1961.-
- (11) MUTCH, C.V. and BROOK, P.J. A Survey of the extent of Facial Eczema in Hobson and Otanatea counties, Northland. N.Z.J. Agr.Res. 7:129.13 1963.-
- (12) PERCIVAL J.C. Photosensitivity Diseases in New Zealand. The association of Sporidesmium bakeri with Facial Eczema, N.Z.J. Agr. Res. 2:1041.1056. 1959.-
- (13) SINCLAIR, D.P. Pithomyces chartarum spores on pasture and their relation to Facial Eczema in sheep. N.Z.J. Agric.Res. 4:492.503 1961.-
- (14) THORNTON, R.H. and SINCLAIR, D.P. Some observations on the occurrence of Sporidesmium bakeri Syd. and Facial Eczema Disease in the field N.Z.J. Agric. Res. 3:300.313 1960.-
- (15) THORNTON, R.H. and ROSS D.J. The isolation and cultivation of some fungi from soils and pastures associated with Facial Eczema Disease of sheep. N.Z.J. Agric. Res. 2:1002.1016. 1959.-
- (16) THORNTON, R.H. Anti-fungal activity of fatty acids to Pithomyces chartarum (Berk-Curt) M.B. Ellis. N.Z.J. Agr. Res. 6:318.319. 1963.

=====