

ARTICULO ORIGINAL

Aislamiento de *Cephalosporium* sp. en pelos de lobos marinos *Arctocephalus* spp. en Cuba

Isolation of *Cephalosporium* sp. in hairs of fur seals *Arctocephalus* spp. in Cuba

Liena Sánchez-Martínez^{1*}
Celia Guevara-March¹
Ronar López-Cañizares²
Laima Sánchez-Campos¹
Raúl Campos-Talavera³

¹ Acuario Nacional de Cuba (ANC),
Ave Ira, No. 4608, entre 46 y
60, Playa, CP 11300, La Habana,
Cuba.

² Delfinario Cayo Santa María,
Marina Gaviota Las Brujas.
Pedraplén Cayo Santa María Km
42, C.P. 52610, Villa Clara, Cuba.

³ Jardín Zoológico de La Habana
(JZH), Ave 26 y 47, Nuevo
Vedado, C.P. 10400, La Habana,
Cuba.

* Autor para correspondencia:
lienas@acuaronacional.cu

Resumen

Entre las enfermedades que han sido diagnosticadas para los pinnípedos, se encuentran las causadas por agentes micóticos. Las micosis superficiales en lobos marinos tienden a ser enfermedades recurrentes y pueden estar asociadas a otros agentes etiológicos, por lo que es importante su control y prevención. El objetivo de esta investigación fue aislar e identificar el agente causal de la micosis superficial presente en dos especies de lobos marinos, *Arctocephalus tropicalis* y *A. gazella*, mantenidos por más de seis años en ambientes controlados en el Acuario Nacional de Cuba. Se obtuvieron muestras de pelos y el crecimiento del microorganismo se realizó en medio Agar Dextrosa de Sabouraud, a temperatura ambiente. Se pudo aislar el hongo causal de la micosis y se identificó como perteneciente al género *Cephalosporium* sp., aunque no pudo clasificarse hasta el nivel de especie. Este género, que afecta comúnmente a plantas y a mamíferos terrestres, no se ha descrito con anterioridad para pinnípedos en el mundo. El signo patognomónico de *Cephalosporium* en estas especies de lobos marinos es la formación de nudos en el pelaje. Este hongo fue sensible a la combinación de tratamiento sistémico con Fluconazol (0.5 mg/kg dos veces al día) y a la aplicación de baños locales con solución de Sulfato de Cobre (Cu₂SO₄) al 2%, durante 14-28 días.

Palabras clave: *Cephalosporium* sp., hongos, lobos marinos, micosis, pinnípedos.

Abstract

Among the diseases that have been diagnosed for pinnipeds are those caused by fungal agents. Superficial mycoses in fur seals held under controlled environments tend to be recurrent diseases and they may be associated to another etiological agent. Due to this, their control and prevention is important. The goal of this research was to isolate and to identify the causal agent of superficial mycoses found in two species of fur seals *Arctocephalus tropicalis* and *A. gazella*, held under controlled environment at the

OPEN ACCESS

Distribuido bajo:
Creative Commons CC-BY 4.0

Editor:
Anmari Álvarez
Clearwater Marine Aquarium
Research Institute, EE.UU.

Recibido: 19.04.2021

Aceptado: 05.08.2021

National Aquarium for more than six years. Samples of hair were obtained and the microorganism was cultured in Agar Dextrosa Sabouraud at normal conditions. The causal agent of these mycoses was isolate and it was identified as belonging to the genus *Cephalosporium*; although it could not be classified to the specie level. This genus, commonly affects plants and terrestrial mammals, and it has not been described previously for pinnipeds in the world. The pathognomonic sign of *Cephalosporium* in these fur seals species is the formation of knots in the fur. This microorganism was sensitive to the combination of systemic treatment with Fluconazole (0.5 mg/kg twice daily) and the application of local baths with 2% Copper Sulfate Solution (Cu_2SO_4) for 14-28 days.

Keywords: *Cephalosporium* sp., fungi, fur seals, mycoses, pinnipeds.

Introducción

Dentro las enfermedades que han sido diagnosticadas para pinnípedos se encuentran las causadas por agentes fúngicos (Reidarson *et al.*, 2018), que tienden a ser enfermedades recurrentes en lobos marinos mantenidos bajo condiciones controladas (Reisfeld *et al.*, 2018). El carácter oportunista de estos microorganismos y el impacto de las lesiones hace que aumente el número de hongos importantes en la medicina de estas especies (Ramana *et al.*, 2013). Este tipo de afecciones produce manifestaciones clínicas muy variables que van desde síntomas leves, hasta lesiones supurativas e inflamatorias intensas (Salazar y Ramírez, 2019; Tapia, 2019).

Estudios a nivel internacional identifican a *Microsporium canis* (Begum & Kumar, 2020), *Malassezia pachydermatis* (Reisfeld *et al.*, 2015), *Rhodotorula mucilaginosa* (Perez *et al.*, 2010), *Histoplasma capsulatum* y *Coccidioides immitis* (Reidarson *et al.*, 2018) como algunos de los agentes fúngicos causantes de micosis en diferentes especies de lobos marinos, tanto en vida libre como en los mantenidos en ambientes controlados.

No hay evidencia definitiva de transmisión horizontal de estas enfermedades, las que pueden estar asociadas a factores de estrés, ambientes no adecuados e incluso al no cumplimiento de las normas de manejo en animales cautivos (NOM-135-SEMARNAT, 2004; Field *et al.*, 2018; Gage y Floyd, 2018). Además, pueden estar relacionadas con otros agentes etiológicos (Colegrove, 2018), por lo que es importante su control y prevención. El diagnóstico se basa en los signos clínicos y se confirma mediante la identificación del microorganismo en biopsia o, preferiblemente, cultivo (Salazar & Ramírez, 2019).

Por tal motivo, se plantea como objetivo aislar e identificar el agente causal de las micosis superficiales presentes en dos especies de lobos marinos del género *Arctocephalus*, mantenidos en ambientes controlados en el Acuario Nacional de Cuba.

Materiales y métodos

Para la realización de esta investigación se obtuvieron muestras de pelo de la región antero dorsal de dos especies de lobos marinos, pertenecientes al género *Arctocephalus*, específicamente *A. tropicalis* (Gray, 1872) y *A. gazella* (Peters, 1875), mantenidos por seis años en ambientes controlados en el Acuario Nacional de Cuba.

Las muestras fueron tomadas y transportadas con material estéril, utilizando tijeras *Talmed* rectas de acero inoxidable de 14cm, pinzas *Rochester Pean* recta de 14cm y placas de Petri *Duran* 100x15mm de vidrio.

El procesamiento de las muestras tuvo lugar en el Laboratorio de Microbiología del Jardín Zoológico de La Habana. Los cultivos microbiológicos siguieron la metodología descrita por Lagier *et al.* (2015). El crecimiento del microorganismo se realizó en medio Agar Dextrosa de Sabouraud, en tubos inclinados con cloranfenicol como inhibidor bacteriano, se colocó a temperatura de 25°C, realizándose lecturas diarias hasta los 14 días. El microorganismo aislado se clasificó aplicando las pruebas bioquímicas y de cultivo, descritas

por Gradwohl *et al.*, (1983), Bisping y Amtsborg (1988), Carter *et al.*, (1994) y MacFaddin (2003).

Posterior al análisis microbiológico, se estableció un esquema de tratamiento para los dos animales afectados, teniendo en cuenta los regímenes posológicos descritos para la especie (Simeone & Stoskopf, 2018).

Resultados y discusión

A través del examen microbiológico de las muestras analizadas, se pudo determinar que la afección presente en el pelaje de lobos marinos del género *Arctocephalus* es causada por un agente micótico. El microorganismo aislado e identificado pertenece al género *Cephalosporium* (= *Acremonium*), aunque no se pudo clasificar hasta el nivel de especie.

Las micosis superficiales son un problema común en pinnípedos mantenidos en ambientes controlados. Pueden aparecer solas o asociadas a otros agentes etiológicos como: virus, bacterias y parásitos (Colegrove, 2018). Entre los agentes fúngicos identificados con mayor frecuencia, se encuentran los del género *Microsporium*, aislados en focas comunes *Phoca vitulina* y leones marinos californianos *Zalophus californianus* (Begum & Kumar, 2020). *Malassezia* spp.

se ha reportado en leones marinos *Otaria flavescens*, *Z. californianus* y *A. tropicalis* y en focas *Halichoerus grypus* y *P. vitulina* (Nakagaki *et al.*, 2000; Pollock *et al.*, 2000; Sos *et al.*, 2013; Reisfeld *et al.*, 2015). *Candida* spp., *Trichophyton* spp., *Rhodotorula* spp. y *Fusarium* spp. también han sido diagnosticados en estas especies marinas (Perez *et al.*, 2010; Reidarson *et al.*, 2018; Reisfeld *et al.*, 2018).

Cephalosporium es un hongo que se caracteriza por la producción de colonias bien identificadas, cuyo color varía de acuerdo con el medio de cultivo (Fig. 1). La similitud entre sus numerosas especies dificulta su identificación. Esta situación es recurrente en la literatura micológica médica, al describirse con frecuencia sólo hasta nivel genérico, particularmente en sus roles oportunistas en casos de micosis superficiales (Hilmioglu-Polat, *et al.*, 2005; Piontelli y Vivar, 2007; Salazar y Ramírez, 2019). Este hongo, que afecta a gramíneas *Gaeumannomyces graminis* (Larran, 2016; Pérez, 2018), reptiles *Sclerops* sp. (Graham, 2021), mamíferos terrestres *Equus caballus* (Pusterla & Leutenegger, 2017) y raramente de manera oportunista al hombre *Homo sapiens* (Maranhão *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2020), no se ha descrito con anterioridad para pinnípedos a nivel mundial.

A pesar de que *A. tropicales*, *A. gazella* y *A. australis* (Zimmerman, 1783), se encontraban en el mismo recinto, bajo las mismas condiciones de manejo y en contacto físico constante, se observó que solo las primeras dos especies fueron susceptibles a esta afección. Estas especies afectadas tienen en común que sus poblaciones naturales habitan en aguas frías circumpolares; no sucediendo así en *A. australis*, que resisten en aguas más cálidas de América del Sur (Folkens & Randall, 2002). Estudios realizados por Sós *et al.* (2013), Reidarson *et al.* (2018) y Reisfeld *et al.* (2018) plantean que las altas temperaturas en las aguas es uno de los factores que influyen en la aparición de este tipo de micosis, sobre todo en las especies de pinnípedos acostumbradas a temperaturas más bajas. Los resultados obtenidos coinciden



Fig. 1. Características macroscópica del hongo aislado como agente causal de micosis superficial en lobos marinos *A. tropicalis* y *A. gazella*, identificado como del género *Cephalosporium* (= *Acremonium*).



Fig. 2. Formación de nudos en el pelaje, signo patognomónico de *Cephalosporium* sp. en lobos marinos *A. tropicalis* y *A. gazella*.

con este criterio ya que la mayor incidencia de la enfermedad fue en julio y agosto, meses de mayor calor en Cuba. Se conoce, además, que la cloración excesiva de los recintos, el desequilibrio nutricional, tratamientos prolongados de antibióticos y el aislamiento social en animales mantenidos en ambientes controlados pueden ser otros de los factores que inciden en la aparición de estas afecciones (Perez *et al.*, 2010; Field *et al.*, 2018; Gage y Floyd, 2018).

La micosis superficial causada por *Cephalosporium* sp., se caracteriza clínicamente por la presencia de pequeños nudos en el pelaje de los animales afectados, pudiendo localizarse en regiones determinadas (región antero dorsal), así como llegar a cubrir todo el cuerpo;

prurito, zonas alopecias e incluso puede llegar a descamación. Al comparar los síntomas clínicos que provoca este hongo con otros causados por agentes como: *Fusarium* spp., *Microsporium* spp. y *Candida* spp. en lobos marinos, podemos observar que existen manifestaciones clínicas comunes como: prurito, alopecia y descamación (Begum y Kumar, 2020; Reidarson *et al.*, 2018; Reisfeld *et al.*, 2018). El signo patognomónico de *Cephalosporium* en estas especies de lobos marinos es la formación de nudos en el pelaje (Fig. 2). De esta manera es importante el aislamiento y la identificación del microorganismo para la aplicación de una terapia correcta.

El tratamiento para los agentes micóticos pueden ser un desafío, debido a la naturaleza del microorganismo,

a la exposición de los animales de manera continua a un hábitat constantemente húmedo y algunas veces cálido. La combinación del tratamiento sistémico con Fluconazol (0.5 mg/kg dos veces al día) y la aplicación de baños locales con solución de Sulfato de Cobre (Cu_2SO_4) al 2% durante 14-28 días resultó exitoso para la terapia de *Cephalosporium* sp. en lobos marinos *A. tropicales* y *A. gazella*. Además, se aplicó un suplemento vitamínico diario: Retinol (100000 UI), Tocoferol (400 UI), Ácido Ascórbico (1g), Complejo de Cianocobalamina (10.000 μg), Clorhidrato de Piridoxina (280 mg) y Mononitrato de Tiamina (250 mg).

Conclusiones

Se aísla por primera vez en Cuba *Cephalosporium* sp. como agente causal de micosis superficial en lobos marinos *Arctocephalus* spp. Este hongo no se ha descrito con anterioridad para pinnípedos en el mundo. Se sugiere la combinación de tratamiento sistémico con Fluconazol (0.5 mg/Kg dos veces al día) y a la aplicación de baños locales con solución de Sulfato de Cobre (Cu_2SO_4) al 2% durante 14-28 días.

Agradecimientos

Agradecemos de forma especial a los entrenadores del Acuario Nacional de Cuba por colaborar con las tomas de muestras, igualmente agradecer a los revisores del manuscrito por sus valiosas observaciones.

Declaración sobre las contribuciones de los autores

Contribución de autores: "Conceptualización, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Metodología, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Software, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Validación, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Análisis formal, LSM, CGM, RLC y LSC; Investigación, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Recursos, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Curación de datos, LSM, CGM, RLC y LSC; Escritura

- Original " Preparación del borrador, LSM y RLC; Escritura – Revisión y edición, LSM, CGM, RLC, LSC y RCT; Visualización, LSM; Supervisión, LSM; Administración del proyecto, LSM ".

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Referencias

- Begum, J., Kumar, R. (2020). Prevalence of dermatophytosis in animals and antifungal susceptibility testing of isolated *Trichophyton* and *Microsporum* species. *Trop. Anim. Health. Prod.*, 16, 01-08. doi: 10.1007/s11250-020-02476-3.
- Bisping, W., Amtsberg, G. (1988). *Colour Atlas for the Diagnosis of Bacterial Pathogens in Animals*. Berlin, Alemania: P. Parey Scientific, Print.
- Carter, G., Chengappa, M., Claus, G.W., Rikihisa, Y., Lemus, G.A., Carsolio, P.R. (1994). *Bacteriología y micología veterinarias: Aspectos esenciales. Manual Moderno*. 2^{da} ed. Distrito Federal, México: Editorial Médica Panamericana.
- Colegrove, K.M. (2018). Pathology. Noninfectious Diseases. En F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf y K. L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp. 267-296).
- Field, C.L., Gulland, F.M.D., Johnson, S.P., Simeone, C.A., Whoriskey, S.T. (2018). Taxon Specific Medicine. Seal and Sea Lion Medicine. En F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf y K.L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp. 909-934).
- Field, C.L., Gulland, F.M.D., Johnson, S.P., Simeone, C.A., Whoriskey, S.T. (2018). Taxon Specific Medicine. Seal and Sea Lion Medicine. En F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf y K.L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp. 909-934).
- Folkens, P.A. y R.R. Randall. (2002): *Guide to marine mammals of the world*. 1st ed. New York, Estados Unidos: National Audubon Society.

- Gage, L.J., Floyd, R.F. (2018). Husbandry. Environmental Considerations. En F.M.D. Gulland, L. A. Dierauf y K.L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp. 757-766).
- Gradwohl, R.B.H., Sonnenwirth, A.C., Jarett, L. (1983). *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8^{va} ed. Bogotá, Colombia: Editorial Medica Panamericana.
- Graham, E.A., Burns, R.E., Ossiboff, R.J. (2021). Depositional diseases. En M.M. Garner y E.R. Jacobson (Eds.), *CRC Press Noninfectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color Atlas and Text, Diseases and Pathology of Reptiles*. (pp. 524-613).
- Hilmioglu-Polat, S., Metin, D.Y., Inci, R., Dereli, T., Klink, I., Tümbay, E. (2005). Non dermatophytic molds as agents of onychomycosis in Izmir, Turkey: prospective study. *Mycopath.*, 160,125-128. doi: 10.1007/s11046-005-6872-z.
- Lagier, J.C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., Raoult, D. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.*, 28, 208-236. doi: 10.1128/CMR.00110-14.
- Larran, S. (2016). *Estudio de la microbiota endofítica asociada a trigo y soja y su significancia en la interacción con patógenos fúngicos*. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- MacFaddin, J.F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. 3^{ra} ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Medica Panamericana.
- Maranhão, F.C., Oliveira, J.B., Araújo, M.A., Silva, D.M.W. (2019). Mycoses in northeastern Brazil: epidemiology and prevalence of fungal species in 8 years of retrospective analysis in Alagoas. *Braz. J. Microbiol.*, 50, 969-978. doi: 10.1007/s42770-019-00096-0.
- Nakagaki, K., Hata, K., Iwata, E., Takeo, K. (2000). *Malassezia pachydermatis* isolated from a South American sea lion (*Otaria byronia*) with dermatitis. *J. Vet. Med. Sci.*, 62, 901-903. doi: 10.1292/jvms.62.901.
- NOM-135-SEMARNAT (Norma Oficial Mexicana) (2004). *Para la regulación de la captura para investigación, transporte, exhibición, manejo y manutención de mamíferos marinos en cautiverio*. <https://www.profepa.gob.mx/innovaportal/file/1319/1/nom-135-semarnat-2004.pdf>, consultado en línea el 12 de febrero de 2021.
- Pérez, I., Delgado, H.I.R., García, R.M. (2018). Principales enfermedades que afectan al cultivo del arroz en Ecuador y alternativas para su control. *Rev. Cient. Agroecos.*, 6, 16-27.
- Perez, S.A., Mateos, A., Dominguez, L., Nevado, E.M., Blanco, J.L., Garcia, M.E. (2010). Isolation of *Rhodotorula mucilaginosa* from skin lesions in a Southern sea lion (*Otaria flavescens*): a case report. *Veter. Med.*, 55, 297-301. doi: 10.17221/2988-VETMED.
- Piontelli, E.L., Vivar, V.M. (2007). Casos clínicos: *Microsporium praecox*, *Acremonium strictum* nuevos agentes de micosis cutáneas oportunistas en La zona central de Chile. *Bol. Micol.*, 22, 55-63. doi: 10.22370/bolmicol.2007.22.0.223.
- Pollock, C.G., Rohrbach, B., Ramsay, E.C. (2000). Fungal dermatitis in captive pinnipeds. *J. Zoo. Wild. Med.*, 31, 374-378. doi: 10.1638/1042-7260(2000)031[0374:FDICP]2.0.CO;2.
- Pusterla, N., Leutenegger, C.M. (2017). Molecular Diagnostics for Infectious Pathogens. En N. Pusterla y J.C. Higgins (Eds.), *Interpretation of Equine Laboratory Diagnostics*. (pp. 325-489).
- Ramana, K.V., Kandi, S., Bharatkumar, V. (2013). Invasive fungal infections: comprehensive review. *Amer. Jour. of Infect. Disea. and Microb.*, 1, 64-69. doi: 10.12691/ajidm-1-4-2.
- Reidarson, T.H., Párraga, D.G., Wiederhold, N.P. (2018). Infectious Diseases: Marine Mammal Mycoses. En F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf y K. L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp.389-424).
- Reisfeld, L., Henrique, P.C., Ribeiro, B., Ippolito, L., Coutinho. S.D.A. (2015). Alopecia por *Malassezia pachydermatis* en un lobo marino-subantártico

- (*Arctocephalus tropicalis*)-relato de caso. *Clín. Vet.*, 20, 92-96.
- Reisfeld, L., Sacrista, C., Canedo, P., Schwarz, B., Ewbank, A.C., Espero, F., Dias, J.C. (2018). Fusariosis in a Captive South American Sea Lion (*Otaria flavescens*): A Case Report. *Mycopath.*, 184, 187-192. doi: 10.1007/s11046-018-0270-9
- Salazar, E.G.I., Ramírez, M.C.G. (2019). *Micología general*. Centro Editorial Universidad Católica de Manizales. ISBN 978-958-52337-1-3.
- Simeone, C.A., Stoskopf, M.K. (2018). Medicine, Anesthesia, and Surgery. Pharmaceuticals and Formularies. En F.M.D. Gulland, L.A. Dierauf y K.L. Whitman (Eds.), *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine Third Edition* (pp. 607-674).
- Sos, E., Molnar, V., Lajos, Z., Koroknai, V., Gal, J. (2013). Successfully treated dermatomycosis in California sea lions (*Zalophus californianus*). *J. Zoo. Wild. Med.*, 44, 462-5. doi: 10.1638/2011-0275R1.1.
- Tapia, H.F. (2019). Análisis fúngico marino y potencial patógeno sobre el delfín mular *Tursiops truncatus* en el estero El Morro, Guayas-Ecuador. *Rev. Cienc. UNEMI.*, 12, 01-13. doi: org/10.29076/issn.2528-7737vol12iss30.2019pp1-13p.
- Wang, X., Ding, C., Xu, Y., Yu, H., Zhang, S., Yang, C. (2020). Analysis on the pathogenic fungi in patients with superficial mycosis in the Northeastern China during 10 years. *Exp. Ther. Med.*, 20, 281. doi: 10.3892/etm.2020.9411.

Como citar este artículo

Sánchez-Martínez, L., Guevara-March, C., López-Cañizares, R., Sánchez-Campos, L., Campos-Talavera, R. (2021). Aislamiento de *Cephalosporium* sp. en pelos de lobos marinos *Arctocephalus* spp. en Cuba. *Rev. Invest. Mar.*, 41(2), 15-21.