

Estudio macro y microscópico de la tuberculosis aviar en un zoológico de la Sabana de Bogotá

Rafael Neira Rairán* Germán Rodríguez Martínez** Angela Silva Iguá***
Leonardo Arias Bernal**** Martha Inirida Guerrero *****
Clara Inés León Franco*****

RESUMEN

A partir de diagnósticos histopatológicos de casos compatibles con procesos granulomatosos, emitidos por el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de La Salle en un alcaraván (*Burhinus bistriatus*) y en dos tinajas azules (*Porphyryla martinica*), procedentes de un zoológico de la Sabana de Bogotá, se diseñó una investigación con el fin de comprobar la presencia de *Mycobacterium avium*, realizar un seguimiento epidemiológico de la población aviar existente en un encierro mixto silvestre y proyectar las medidas para reducir los factores de riesgo, tanto para los animales como para las personas. Se utilizó un grupo control de cinco aves domésticas raza Hy line Brown, un grupo centinela de diez aves del mismo lote del grupo control, un grupo control externo constituido por 102 aves de los encierros vecinos al área problema: 28 patos, 25 guacamayas, 26 loros, 23 aves rapaces y el grupo de aves del encierro problema. Se realizaron estudios retrospectivos y prospectivos mediante estudios morfológicos macro y microscópicos (Hematoxilina-Eosina y Ziehl-Neelsen). Con los estudios morfológicos se comprobó la presencia de lesiones granulomatosas en diversos órganos de los animales muertos de los grupos de aves centinela y

del encierro problema, destacándose el hallazgo de lesiones granulomatosas en leptomeninges y sustancia blanca de la médula espinal y la mineralización (calcificación) en algunos granulomas, principalmente de hígado y pulmones. Con la coloración de Ziehl-Neelsen de los tejidos se comprobó la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes y se confirmó el diagnóstico de micobacteriosis en una de las aves centinela y en tres de las aves del encierro problema. Los animales de fuera del encierro no mostraron ningún indicio de enfermedad micobacteriana. Los hallazgos macro y microscópicos de los tejidos junto con los estudios microbiológicos y moleculares (no mostrados en este artículo) permiten concluir que el encierro problema se encuentra afectado por tuberculosis aviar causada por *Mycobacterium avium* principalmente, constituyéndose en un foco de alto riesgo para las aves de zoológico, silvestres y las comerciales eventualmente en contacto y un riesgo potencial para los humanos, por lo que se recomiendan medidas para su prevención, control y posible erradicación.

Palabras clave: tuberculosis aviar, lesiones macro y microscópicas, zoológico.

* Médico Veterinario, MSc. Docente Investigador, Facultad Medicina Veterinaria Universidad de La Salle. Correo electrónico: rafael_neira@yahoo.com

** MVZ, PhD. Docente Investigador, Facultad Medicina Veterinaria Universidad de La Salle. Correo electrónico: grm_mvz@hotmail.com

*** MV, Universidad de La Salle. Correo electrónico: araigua@yahoo.com.br

**** MV, Esp. Docente Investigador, Facultad Medicina Veterinaria Universidad de La Salle. Correo electrónico: larias@lasalle.edu.co

***** Bact. MSc. Investigadora Científica, Instituto Nacional de Salud. Correo electrónico: marthainirida@yahoo.com

***** Bact. MSc. Investigadora Científica, Instituto Nacional de Salud. Correo electrónico: clarainesleon@yahoo.com

Fecha de recepción: septiembre 16 de 2006.

Fecha de aprobación: noviembre 14 de 2006.

MACRO AND MICROSCOPIC STUDY OF AVIAN TUBERCULOSIS AT SAVANNAH'S BOGOTA ZOO

ABSTRACT

Avian tuberculosis diagnosis was made in captive wild birds (*Burhinus bistriatus* and *Porphyryula martinica*) from a zoo park at Sabana de Bogotá (Colombia). Based on this diagnosis, a surveillance approach was designed in order to demonstrate whether or not a focus of tuberculosis infection caused by *Micobacterium avium* was present at this zoo with the purpose to identify a possible hazard to prevent the infection of other bird population, visitors and workers of the park. Clinical, morphological (gross and microscopic) are described in this article, but microbiological (culture in specific media), epidemiological (DPP) and molecular (PCR) studies, will be shown in other journal. In this work animals were organized en three different groups as follow: Five *Hy line Brown* chicken tuberculosis free coming from a commercial farm (sentinel group). A mixed group birds (102 animals) from the pens around the primary focus (28 dukes, 25 "guacamayas", 26 parrots and 23 rapacious birds), (highest risk group). Five birds within the pen in which the diagnosis was made (contaminated birds group). It was demonstrated

granulomatous lesions in animals from the sentinel group as well as in those from the pen in which the first diagnosis was made. Lesions were founded in liver, spleen, lungs, kidneys, intestines and in one case in the white matter and leptomeniges of the spinal cord were affected. Ziehl – Neelsen positive rods were identified in all the affected tissues. No tuberculosis lesions were found in animals caged in neighborhood pens. It was concluded that there is an infectious focus of tuberculosis (micobacteriosis) caused by *M. avium* in the zoo, but the focus is located only in one pen and this focus could represent a critical risk of infection with *M. avium* for some of the birds within the zoo, wild and eventually commercials birds and the human beings as well. It is recommended that prevention, control and eradication measurements have to be made to prevent the spread of tuberculosis at the zoo.

Key words: Avian Tuberculosis, macro y microscopic lesion, zoo.

INTRODUCCIÓN

El incremento en la comercialización de animales silvestres en los últimos años, especialmente de aves, genera un flujo significativo de éstas a centros de recepción y zoológicos que enfrentan limitantes económicas para la evaluación clínico-patológica profunda y alimentación de los animales provenientes de donaciones, centros de rescate y recepción; constituyendo una debilidad en la vigilancia epidemiológica.

La constante situación de estrés que enfrentan los animales cautivos no solo por este hecho sino por encontrarse en un medio ajeno, lejos de las condiciones térmicas, de humedad, luminosidad, etc. para las cuales han sido destinados biológicamente; contribuye a la aparición de múltiples entidades clínicas que con frecuencia se salen de las posibilidades médicas llevando a la pérdida del paciente e incluso como en este caso, a comprometer la salud de la población animal y humana.

La exposición de las aves con un sistema inmunológico incompetente frente a agentes patógenos desconocidos, probablemente de curso crónico, determina la importancia del reconocimiento de las entidades presentes y el seguimiento de casos positivos de ocurrencia esporádica potencialmente zoonóticos para implementar la medicina preventiva en beneficio de la salud poblacional.

Con el paso del tiempo, la práctica veterinaria ha venido abarcando más campos de acción dada la diversidad de aspectos que le conciernen a la salud, no solo en el desarrollo de la medicina curativa sino preventiva.

La característica particular de desplazamiento extenso que poseen las aves, hace que sean potencialmente diseminadoras de agentes, obligando ética y profesionalmente al médico veterinario a asumir uno

de los principios básicos de su profesión, velar por la salud de la comunidad animal, garantizando el bienestar humano. La dinámica de interacción constante que involucra la totalidad de la triada (hospedero, ambiente, agente), determina la importancia de la vigilancia epidemiológica periódica, para establecer el riesgo, la población susceptible y finalmente las medidas de control, enfocadas a una medicina preventiva.

El objetivo de la investigación macro se orientó a realizar un seguimiento epidemiológico de la población aviar existente en un zoológico, ubicado en la Sabana de Bogotá; utilizando además un grupo de animales centinela (aves domésticas) en el que se contempló realizar estudios morfológicos macro y microscópicos, que son los que se publican en el presente artículo, además estudios microbiológicos, epidemiológicos y moleculares que son motivo de otra publicación, con el propósito de comprobar la presencia de *Mycobacterium avium* donde se habían registrado casos de aves muertas diagnosticados con lesiones compatibles con tuberculosis y proyectar una serie de medidas para reducir los factores de riesgo tanto para los animales como para las personas que en forma directa o indirecta tienen que ver con dichos animales.

MARCO TEÓRICO

Durante el siglo XIX, Pasteur y Koch, citados por Iañez 1998, definieron la existencia de una serie de bacterias que intervienen como agentes específicos en la producción de enfermedades y que la enfermedad se podía transmitir sucesivamente a ratones sanos, inoculándoles bacilos en cultivo puro, obtenidos por transferencias en medios líquidos; en especial Koch demostró el principio de especificidad biológica del agente infeccioso y que cada enfermedad infecciosa específica está causada por un tipo de bacteria diferente. En 1882 Koch publica un artículo titulado “*Die Athiologie der Tuberkulose*” citado por Barskdale

y Kim (1977), donde hizo una célebre comunicación que señaló el comienzo de una época en la biología, en la que afirmaba que la causa de la tuberculosis del hombre y del bovino era un parásito bacteriano: el bacilo de la tuberculosis. Koch mantuvo durante algunos años que los bacilos tuberculosos eran siempre los mismos, cualquiera que fuera la especie en que se encontraran. El que el microorganismo de la tuberculosis de la gallina fuera idéntico al microbio que causaba la tuberculosis en los mamíferos, fue asunto que suscitó mucha controversia.

La tuberculosis de la aves en aquel tiempo estudiada en gallinas domésticas, no quedó definitivamente establecida como entidad nosológica distinta hasta 1883 cuando Rivolta y más tarde Maffucci en 1890, citados por Feldman (1964), demostraron con experimentos que este microorganismo era claramente disímil del que producía la tuberculosis bovina. En 1901 Koch abandonó finalmente su posición y declaró que la tuberculosis de las aves difería de la humana y que la enfermedad del hombre también se distinguía de la que ataca a la especie bovina (Feldman, 1964).

Aunque se reconoce desde hace tiempo que la tuberculosis aviar es una enfermedad contagiosa, continúa la diseminación en todo el mundo. La existencia de tuberculosis aviar en zoológicos, posee importancia adicional a la mortalidad asociada, debido a que afecta aves que están en vía de extinción. Los problemas de manejo para el control se hacen mayores, pues las especies exóticas a menudo se conservan cautivas por años y esta enfermedad parece ser más prevalente en aves de edad avanzada, no porque las jóvenes sean más resistentes a la infección, sino porque la enfermedad tiene mayor oportunidad de establecerse en aves de más edad por un periodo más largo de exposición. Un obstáculo mayor para la eliminación de la micobacteriosis aviar en los zoológicos, se relaciona con la capacidad del microorganismo para sobrevivir en el suelo y la carencia de procedimientos adecuados para limpiar y desinfectar

los lugares contaminados, pues la enfermedad se caracteriza por su cronicidad y persistencia una vez establecida (Thoen, 2000).

ETIOLOGÍA

El género *Mycobacterium* está formado por bacilos aerobios, inmóviles, no esporulados, con un tamaño de 1 a 10 µm de largo por 0.2 a 0.6 µm de ancho y pueden producir filamentos ramificados. La pared celular es rica en lípidos, lo que faculta a que la superficie sea hidrofóbica y a que la micobacteria sea resistente a sustancias desinfectantes y a los colorantes de laboratorio. Son bacilos, que una vez son teñidos con colorantes, son resistentes a la decoloración con base a soluciones ácidas y por esta característica se ha determinado el nombre de acidorresistentes la cual se determina por la tinción de Ziehl-Neelsen (ZN), donde adquieren una coloración roja intensa sobre fondo azul. Como la pared de las bacterias es compleja y son muy exigentes en requerimientos nutricionales, crecen con lentitud y tienen un tiempo de generación de 12 a 24 horas con un rango 2 horas hasta 21 días, variando según las especies y condiciones de cultivo, para el que necesitan medios enriquecidos y que contengan yema de huevo. Las micobacterias son resistentes a la desecación, los ácidos y álcalis y sensibles a la luz solar directa, luz UV, temperatura superior a 70°C, sublimado corrosivo y desinfectantes orgánicos; como fenol y cresoles (Vadillo *et al.*, 2002).

Son sensibles a los quimioterápicos, como la isoniazida, el etambutol, la cicloserina, la tiosemicarbazona y el ácido paraminosalicílico (PAS), y entre los antibióticos, a la estreptomycin y la rifampicina. Son resistentes a gran número de los antibióticos de utilización más frecuente (Murray *et al.*, 1997).

El complejo *M. avium* comprende tres subespecies: *M. avium avium*, *M. avium paratuberculosis* y *M. avium silvaticum*, lo cual ha podido establecerse mediante técnicas moleculares (Gerlach, 1994).

PATOGENICIDAD

El agente etiológico implicado con mayor frecuencia en la tuberculosis aviar es *M. avium*. Este microorganismo y el *M. intracellulare* son rutinariamente agrupados dentro del complejo *M. avium-intracellulare* (MAI), dada la dificultad para identificarlos mediante cultivo o métodos bioquímicos. Anteriormente era más confiable identificarlos por serotipificación vía seroaglutinación según Carpenter y Gentz, citados por Altman (1997); sin embargo, hoy en día la biología molecular permite diferenciar entre especies.

Los organismos de este complejo son considerados la segunda especie micobacteriana más frecuentemente encontrada, causando infección tanto en animales como en el hombre (Maslow, 1997). Actualmente constituyen el grupo de micobacterias más comunes aisladas en los laboratorios debido a que representan el principal patógeno en los pacientes con VIH en los Estados Unidos. En contraste con otras micobacteriosis, la infección en los humanos con VIH, se manifiesta en forma difusa sin importar el tipo de órgano que invade (Murray, 1997).

El MAI tiene 28 serovares de estas dos especies micobacterianas. Comúnmente solo los serovares 1, 2 y 3 causan enfermedad en aves. Estos primeros tres serovares representan el *M. avium* serovar patogénico para las aves, siendo los 2 y 3 de mayor patogenicidad que el 1 según Carpenter y Gentz, citados por Altman (1997). En EE.UU. las causas más frecuentes de micobacteriosis en pollos son los serotipos 1 y 2; en Europa se ha aislado el serotipo 3 de aves. Otros serotipos como 4 y 8, aislados de humanos y cerdos, no se sabe que provoquen la enfermedad en pollos o aves exóticas cautivas (Thoen, 2000). El *M. intracellulare* es considerado menos patógeno para las aves que el *M. avium* según (Carpenter y Gentz, citados por Altman (1997).

La patogenia de la tuberculosis se basa en: 1) la virulencia del microorganismo 2) la relación entre la hipersensibilidad e inmunidad frente a la infección y 3) la destrucción tisular y la necrosis caseosa (Samuelson y Franz Von, 1995).

Esta entidad es endémica en todo el mundo, especialmente en Gallináceas, Columbriformes, Paserines, Psitácidos y Falconiformes según Dorresteijn, citado por Altman (1997) y ha sido reportada en aves domésticas, costeras y aves de caza. Todas ellas pueden actuar como reservorios para la infección humana (Carpenter y Gentz, citados por Altman, 1997).

Las aves acuáticas son particularmente susceptibles a la infección, la cual puede ser subclínica (Gerlach, 1994). Las especies psitácidas presentan la misma susceptibilidad entre ellas las de los géneros Amazona y Brotogeris según Carpenter y Gentz, citados por Altman (1997).

El principal factor de patogenicidad de las micobacterias es la densa pared celular, rica en lípidos, que les permite sobrevivir en ambientes hostiles, como la célula hospedadora o el medio ambiente. Los lípidos también intervienen directamente en la virulencia de las cepas y en la respuesta inmunitaria a la infección, destacándose los *derivados del ftiocerol* que, dada su localización en la pared, protegen a las micobacterias de la acción de las enzimas del hospedador, permitiéndoles sobrevivir en determinadas circunstancias en el interior de los fagolisosomas; el *factor cuerda*, localizado en la capa externa de la pared celular, con propiedades leucotóxicas, de inhibición del quimiotactismo leucocitario e inducción de respuestas granulomatosas y, a nivel subcelular, con

capacidad para desintegrar el retículo endoplásmico rugoso y provocar la ruptura mitocondrial en la célula hospedadora, que altera la respiración celular y por último, sulfolípidos y fosfolípidos, como el fosfatidil inositol-manósido, que inhibe la función fagolisosómica en el fagocito. Aparte de los lípidos, habría que incluir el lipoarabinomano (LAM), equivalente al lipopolisacárido de la pared en otras bacterias, quelante de radicales de oxígeno libre, que en las especies micobacterianas patógenas lleva ligada manosa, que reduce 100 veces su poder estimulante de la función fagocítica de los macrófagos respecto al LAM de las saprófitas (Hermoso, 2002).

El MAC se parece a *M. tuberculosis* por su cubierta celular compleja que contiene arabinogalactano, peptidoglucano, lipoarabinomano y ácidos micólicos. Por tanto es bastante resistente a los antibióticos y no muere frente a los ácidos y álcalis. Los glucopéptidolípidos polares y apolares funcionan como antígenos superficiales importantes.

La principal puerta de entrada de *Mycobacterium avium* en aves es el tracto intestinal, la cual típicamente resulta en infección visceral. La colonización inicial ocurre en la pared intestinal y la bacteremia subclínica ocurre rápidamente con la diseminación al hígado a través de la circulación portal. La carencia de ganglios linfoides favorece la diseminación hematogena. Los pulmones pueden ser secundariamente infectados durante la bacteremia. Las bacterias son removidas desde el endotelio de los vasos por las células reticuloendoteliales, principalmente en el hígado, bazo y médula ósea (Gerlach, 1994). Típicamente la micobacteria infecta inicialmente el recubrimiento del tracto gastrointestinal y enseguida empieza a colonizar el hígado (Kearns, 2003).

En la patogénesis intervienen dos componentes: uno invasivo, condicionado por los factores de virulencia asociados a la pared, que permiten la resistencia del

agente a la fagocitosis y su capacidad de multiplicación intracelular y otro inmunopatológico, derivado de la imposibilidad de eliminar los bacilos del interior de los macrófagos, que determina la aparición de los fenómenos de hipersensibilidad retardada que finalmente ocasionan. A consecuencia de todo ello, se produce una inflamación granulomatosa, que puede quedar localizada o bien difundirse a otros territorios orgánicos (Hermoso, 2002).

Las respuestas de hipersensibilidad retardada se encuentran reguladas por linfocitos, que liberan linfoquinas que actúan para atraer, inmovilizar y activar células mononucleares sanguíneas al sitio donde se encuentran los bacilos virulentos o sus productos. La hipersensibilidad retardada que se desarrolla, contribuye a acelerar la formación de granulomas y en parte, origina la inmunidad celular en la tuberculosis. Los macrófagos activados que carecen de suficientes componentes microbicidas subcelulares para destruir a los bacilos tuberculosos virulentos se destruyen por el crecimiento intracelular del microorganismo y se desarrolla una lesión. La combinación de lípidos tóxicos y factores liberados por el *M. avium* virulento pueden: 1) ocasionar ruptura del fagosoma, 2) inhibir la formación de fagolisosoma, 3) interferir con la liberación de enzimas hidrolíticas de los lisosomas adheridos, y/o 4) inactivar las enzimas lisosómicas liberadas en vacuolas citoplásmicas (Thoen, 2003).

TRANSMISIÓN Y EXCRECIÓN

Los bacilos tuberculosos que se exudan de las lesiones tuberculosas ulceradas del intestino en aves, resulta una fuente constante de bacterias virulentas. Aunque existen otras fuentes de infección, ninguna iguala a la materia fecal infectante en la diseminación de la micobacteriosis aviar. El aparato respiratorio también es una fuente potencial de infección, especialmente si existe lesión en la mucosa traqueal.

Los bacilos tuberculosos aviares pueden persistir en el suelo por largo tiempo Schalk *et al.*, encontraron un patio contaminado con *M. avium* viables y virulentos en la cama y suelo después de cuatro años de haber retirado una parvada infectada. Además, demostraron que las bacterias se conservan viables en cadáveres enterrados a un metro de profundidad por 27 meses. Esta capacidad para sobrevivir fuera del huésped tiene cierto riesgo para los cerdos y las aves domésticas y silvestres (Thoen, 2003).

Fritzsche y Allam citados por Calneck (2000), en Alemania, aislaron por cultivo *M. avium* de huevos de aves infectadas de manera natural en 3,55% de 899 huevos de 58 parvadas enfermas. Así mismo encontraron que éste no sobrevivía después de seis minutos de ebullición y de dos minutos en preparaciones de huevos revueltos; razón por la cual el huevo no se considera una fuente de transmisión importante para el hombre a pesar de que otros estudios, como el realizado en Polonia por Bojarski y citado por Calneck (2000), revelan que *M. avium* se cultiva de huevos de gallinas infectadas natural y artificialmente.

Otras fuentes de diseminación de los bacilos son los cadáveres de aves muertas por esta causa y los desperdicios de gallinas para alimento, el transporte en zapatos sucios con materia fecal, el equipo empleado en el cuidado y conservación de las aves infectadas (recipientes y sacos de alimento) (Thoen, 2003).

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico presuntivo por lo general se hace con base en las lesiones macroscópicas. Sin embargo, el definitivo se basa en el hallazgo de bacilos ácido resistentes en las heces, en frotis citológicos o secciones histopatológicas de lesiones crónicas provenientes de biopsia o necropsia, coloreándolos con Diff-Quick y Ziehl-Neelsen, y en la inoculación en medios adecuados para aislar e identificar el patógeno causante (Thoen, 2003; Lozano *et al.*, 1982; Rodríguez *et al.*, 1979).

SINTOMATOLOGÍA

El período de incubación más corto es de 20 días tras la infección artificial según Hjärre y Wramby, citados por Dorn (1973). En las infecciones naturales hay que contar con un espacio de tiempo de por lo menos dos a tres meses entre la primera ingestión de gérmenes y la aparición de manifestaciones clínicas. Muchas veces no se observan síntomas hasta el segundo año de vida.

A diferencia de los mamíferos la mayoría de las especies de aves con micobacteriosis muestran signos relacionados con el tracto gastrointestinal. Las excepciones incluyen a los pichones, aves acuáticas y algunos pinzones, en los que la enfermedad empieza en el tracto respiratorio (Kearns, 2003).

La micobacteriosis aviar involucra principalmente el tracto gastrointestinal y se presenta como una enfermedad crónica, aunque aves en buen estado de carnes pueden morir súbitamente. Pérdida de peso, depresión, diarrea y poliuria con pobre respuesta antibiótica es lo reportado por los propietarios de aves. Mal estado de plumas, caquexia, distensión abdominal, debilidad, masas conjuntivales y subcutáneas son hallazgos típicos. Puede observarse disnea si existe compromiso pulmonar según Dorrestein, citado por Altman, 1997).

Los signos se manifiestan cuando la enfermedad ha progresado suficientemente como para afectar el estado físico del ave, la cual se observa deprimida, en mala condición corporal a pesar de mantener el apetito, los músculos pectorales se encuentran atróficos y consecuentemente la quilla se hace notablemente saliente. El mal estado de plumas y la resequeidad de la epidermis expuesta son evidentes. En algunos casos el ave presenta parálisis unilateral y camina con un andar saltón y vacilante, probablemente por compromiso de la médula ósea. Mediante palpación del abdomen se pueden apreciar masas nodulares

a lo largo del intestino, si la hipertrofia hepática lo permite. La mayor parte de las aves presenta diarrea intensa que algunas veces provoca debilidad extrema (Feldman, 1964).

Los casos más avanzados mostrarán lesiones óseas, incluyendo lesiones líticas de las diáfisis de los huesos largos. En algunos casos puede ocurrir letargo leve o anorexia unos días antes de la muerte (Kearns, 2003; Smith 2003).

Algunas aves mueren en unos cuantos meses, mientras que otras viven años, según la gravedad y extensión de las lesiones. La muerte puede ocurrir por consunción extrema o, en forma repentina a consecuencia de hemorragia causada por la ruptura del hígado o el bazo afectados (Feldman, 1964).

Las aves infectadas con *M. tuberculosis* pueden no mostrar signos gastrointestinales ni respiratorios, pero presentan una pequeña masa o granuloma cerca del ojo (Kearns, 2003). Con el género *Amazona* se observa esta lesión asociada con aislamiento de *M. bovis* y ocasionalmente *M. tuberculosis*, siendo el propietario la posible fuente de infección, según Dorrestein, citado por Altman *et al.* (1997).

Fernández *et al.* (1996) reportan dermatitis granulomatosa causada por *M. genavense* (identificado por PCR) en dos pacientes psitácidos. Uno de ellos, una rainbow lorikeet (*Trichoglossus haematodus*) presentaba nódulos que fueron removidos quirúrgicamente sin reincidencia luego de un año y medio. El otro una lora frente azul (*Amazona aestiva*) mostró engrosamiento de la región tibiotarsal en ambos miembros y varios nódulos cutáneos; a la laparoscopia se evidenciaron nódulos intestinales. Este trabajo postula que *M. genavense* puede ser patógeno en loros inmunocompetentes.

En falconiformes y accipitriformes, artritis tibiotarsal y formación de granulomas en los músculos del

muslo pueden observarse ocasionalmente según Dorrestein, citado por Altman *et al.* (1997).

MATERIALES Y MÉTODOS

A partir de los hallazgos histopatológicos se diseñó un estudio prospectivo utilizando un grupo centinela de 15 pollitas (*Gallus domesticus*) de raza Hy line Brown, de cinco semanas de edad, vacunadas contra la enfermedad de Marek al día de edad y contra Newcastle a las 5 y 9 semanas.

Se sacrificaron cinco pollitas al inicio del experimento (las cuales constituyeron el control del grupo centinela), sin que hubiesen ingresado al encierro problema y las restantes se ubicaron dentro del “encierro problema” en una jaula móvil sin piso. Después de 46 semanas de observación se sacrificaron (al igual que las cinco control), mediante un proceso de sobre dosis anestésica utilizando éter como sustancia que permitiría sacrificar los animales en una forma no violenta para determinar el grado de lesión en cada una de las aves expuestas. Durante el primer plano anestésico se tomaron muestras de sangre de la vena ulnar; cuando se confirmó la muerte mediante la técnica del reflejo pupilar, se procedió a realizar la necropsia tomando muestras de diferentes órganos para determinar la presencia y el grado de lesión en cada una de las aves expuestas y no expuestas. Otro grupo, denominado control externo estuvo constituido por 102 aves de los encierros vecinos al área problema, constituido por 28 patos, 25 guacamayas, 26 loros, 23 aves rapaces y un tercer grupo correspondió a las aves silvestres del encierro problema, constituido por un alcaraván (*Burhinus bistriatus*), un mochuelo de hoyo (*Speotito cunicularia*), dos guacharacas variables (*Ortalis motmot columbiana*) y una pava maraquera (*Chamaepetes g. goudotii*).

Los animales se supervisaron diariamente durante todo el período del experimento con apoyo del personal del zoológico, confirmando su estado de salud

y suministrándoles agua y concentrado a voluntad según lo estipulado por la Ley 84 del 27 de Diciembre de 1989, que rige las normas bioéticas para los animales de experimentación. Por norma, todo animal que muere en el zoológico se somete a necropsia y las muestras de órganos y tejidos tomadas son enviadas en el menor tiempo al laboratorio para estudios de histopatología y microbiología. El resto del cadáver debe de ser incinerado.

Durante la necropsia de cada una de las aves de cualquiera de los grupos, se realizó una descripción detallada de las alteraciones morfológicas encontradas y se tomaron muestras de los tejidos afectados, principalmente de hígado, pulmón, bazo, e intestino, ocasionalmente también de riñón, corazón, tejido nervioso central, proventrículo y ventrículo. Las muestras se fijaron en formalina bufferada al 10%, fueron incluidas en parafina y posteriormente cortadas a seis micras de espesor y coloreadas con Hematoxilina-Eosina (H.E). En aquellos tejidos en los que el estudio microscópico con HE reveló algún indicio de reacción granulomatosa, se colorearon con Ziehl-Neelsen (ZN), siguiendo el protocolo normatizado en el Laboratorio de Histopatología de la FMV de la Universidad de La Salle (Armed Forces Institute of Pathology, 1992).

RESULTADOS

Los estudios morfológicos macro y microscópicos realizados a las cinco aves del grupo control de centinela, descartaron la presencia de un proceso granulomatoso por lo cual se deduce que las aves se encontraban libres de algún tipo de enfermedad previa que pudiera interferir con el desarrollo del experimento.

Durante la fase experimental, murieron dos aves del grupo centinela y los estudios morfológicos macro y microscópicos, descartaron la posibilidad de haberse tratado de una enfermedad de tipo granulomatoso. Una de ellas falleció a las 15 y la otra a las 34 semanas de exposición presentando la primera como

única alteración macroscópica hemorragia a nivel de los sacos aéreos posteriores y la segunda peritonitis corroborada microscópicamente.

De las ocho aves restantes del grupo centinela que fueron sacrificadas a las 46 semanas de exposición y se les realizó necropsia, se encontró: dos con lesiones discretas de peritonitis supurativa de etiología no determinada, dos con enteritis moderada de origen parasitario y cuatro con alteraciones morfológicas macroscópicas consistentes en nódulos blanquecino-amarillentos pequeños y discretos tipo punta de alfiler (de dos a cinco por órgano) de uno a dos milímetros en diámetro y de apariencia caseosa. De estas cuatro aves, tres presentaron este tipo de lesiones únicamente en el bazo, mientras que la otra las presentó en hígado, pulmón e intestino (Figura 1). Los animales se encontraban en buen estado de carnes.

FIGURA 1. TUBERCULOSIS AVIAR. NÓDULOS PUNTIFORMES BLANQUECINOS EN HÍGADO DE UNA DE LAS AVES CENTINELAS.



En el examen microscópico, de las cuatro aves del grupo centinela a las que se les encontró lesiones nodulares puntiformes, tres de ellas presentaron, a nivel esplénico, pequeñas áreas circulares de necrosis de caseificación, rodeadas de infiltrado granulomatoso, constituido por macrófagos epitelioides,

células gigantes y fibroblastos. Con la coloración de Ziehl-Neelsen no se observaron bacilos ácido-alcohol resistentes y con la coloración de Brown Brenn se encontraron bacilos Gram negativos, por lo que se diagnosticaron como coligranulomas. En la cuarta ave de este grupo, las lesiones de tipo granulomatoso se encontraron en hígado, pulmón e intestinos; en el hígado, constituidas por nódulos multifocales de infiltración de macrófagos epiteliodes; en el pulmón, los granulomas se encontraron conformados por un centro amplio de necrosis de caseificación con áreas de mineralización (calcificación), rodeados de macrófagos epiteliodes de citoplasma amplio y de aspecto espumoso, abundantes células gigantes de tipo Langhans y fibroblastos hacia la periferia; en intestino se encontraron pequeños focos de necrosis caseificante con reacción granulomatosa en la lámina propia de la mucosa. Con la coloración de ZN se observaron bacilos ácido-alcohol resistentes.

De las 102 aves del grupo control externo, durante la fase experimental murieron ocho, que por las alteraciones morfológicas macro y microscópicas encontradas, se pudieron comprobar diferentes causas de la muerte, pero ninguna relacionada con enfermedad granulomatosa.

Durante el experimento, murieron las cinco aves del encierro problema. Una de ellas, el mochuelo de hoyo, fue encontrado muerto, con mala condición corporal y con alteraciones morfológicas macroscópicas compatibles con un proceso granulomatoso; sin embargo, en el examen microscópico no se encontraron lesiones relacionadas con micobacterias.

En las otras aves, la muerte estuvo precedida de decaimiento, dificultad en los movimientos y aparente dificultad respiratoria. Las alteraciones encontradas, consistieron en: mala condición corporal (Figura 2)

y una localización más frecuente de las lesiones en hígado, pulmones, bazo e intestinos.

FIGURA 2. TUBERCULOSIS AVIAR. MALA CONDICIÓN CORPORAL Y LESIÓN NODULAR SUBCUTÁNEA BLANQUECINA A NIVEL ARTICULAR EN UNA PAVA MARAQUERA (*CHAMAEPETES G. GOUDOTII*).



Las lesiones en hígado y bazo, consistían en aumento marcado del volumen por la presentación de nódulos blanco grisáceos o amarillo grisáceos de diferentes tamaños y de apariencia caseosa que en el caso de la guacharaca variable, abarcaban más del 80% de los órganos afectados, como se aprecia en la Figura 3.

A nivel pulmonar, los nódulos, de características similares a las anteriores, se encontraron distribuidos irregularmente, comprometiendo tanto la pleura como el parénquima pulmonar. En la serosa del ventrículo (molleja) se encontró una formación nodular de color blanquecino y de aspecto caseoso y en los intestinos se encontraron nódulos blanquecinos de diferentes tamaños (2 a 5 mm) en la mucosa.

FIGURA 3. TUBERCULOSIS AVIAR. MÚLTIPLES NÓDULOS DE ASPECTO CASEOSO SOBRE LA SUPERFICIE HEPÁTICA EN UNA PAVA MARAQUERA (*CHAMAEPETES G. GOUDOTII*).

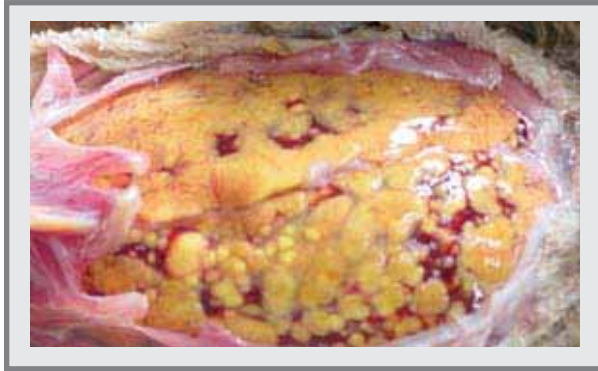


FIGURA 4. TUBERCULOSIS AVIAR. HÍGADO DE UNA DE LAS AVES CENTINELAS EN EL QUE SE OBSERVA UN GRANULOMA CONSTITUIDO POR UN ÁREA CENTRAL DE NECROSIS DE CASEIFICACIÓN (A) DELIMITADA POR CÉLULAS INFLAMATORIAS Y FIBROBLASTOS (B) HE 100X.

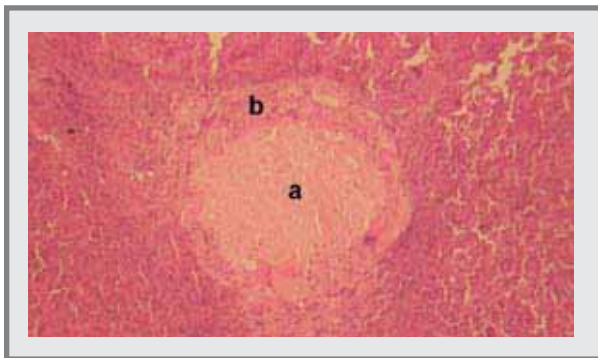
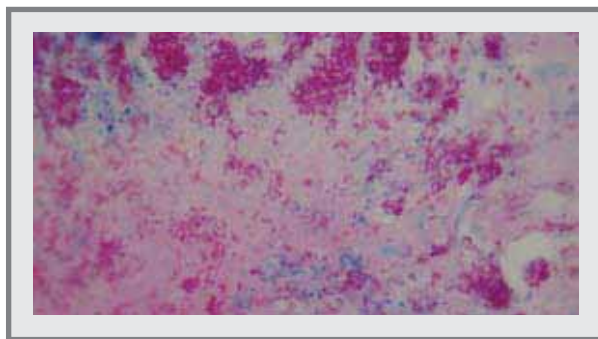


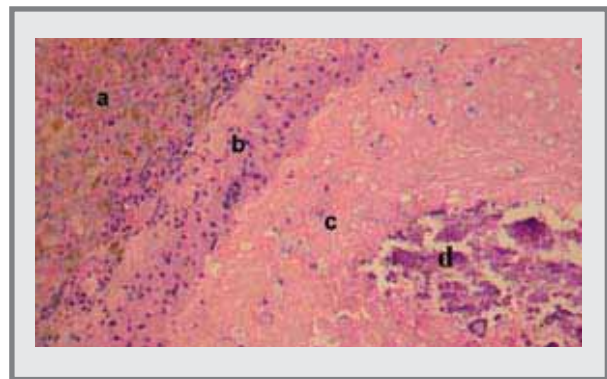
FIGURA 5. TUBERCULOSIS AVIAR. BACIOS ÁCIDO-ALCOHOL RESISTENTES EN LA PARTE PERIFÉRICA DEL GRANULOMA DE LA FIGURA ANTERIOR ZN 400X.



De las cinco aves del encierro problema, en una de ellas, la única alteración microscópica encontrada consistió en una miocarditis de tipo linfocítico de posible etiología viral. En las otras, las lesiones microscópicas encontradas, estuvieron localizadas principalmente en el hígado, pulmón e intestino; en el caso de la guacharaca (*Ortalis motmot columbiana*) se presentó en el hígado, retención biliar, focos múltiples de necrosis de caseificación, algunos con mineralización en la parte central (Figura 5).

También se observaron áreas de necrosis coagulativa, células epitelioides típicas del proceso granulomatoso, fibroblastos evidenciando reacción inflamatoria crónica y células mononucleares (macrófagos y linfocitos). La serosa del ventrículo presentó granulomas caseosos múltiples, de diferente tamaño y de las mismas características descritas en el hígado, con la presencia, en algunos, de células gigantes multinucleadas. A nivel intestinal se encontraron múltiples granulomas constituidos por un centro de necrosis caseosa, rodeado de abundantes macrófagos epitelioides, células gigantes y fibroblastos, comprometiéndolo la lámina propia de la mucosa y en algunos casos, la submucosa (Figura 6).

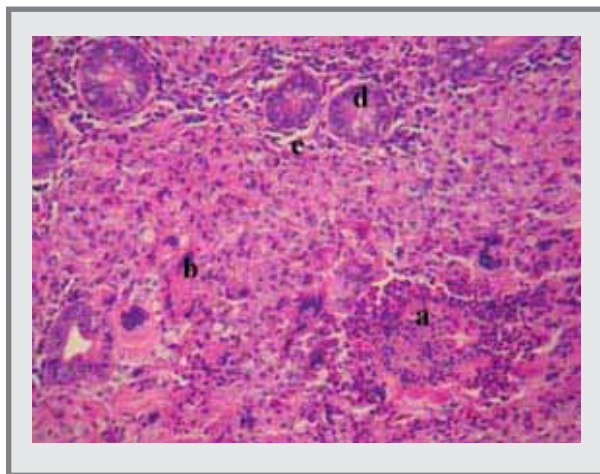
FIGURA 6. TUBERCULOSIS AVIAR. INTESTINO DELGADO DE UNA GUACHARACA (*ORTALIS MOTMOT COLUMBIANA*) EN LA QUE SE OBSERVA UN CENTRO DE NECROSIS; (A) CÉLULAS GIGANTES (B) MACRÓFAGOS EPITELIOIDES (C) Y FIBROBLASTOS POR DEBAJO DE LAS GLÁNDULAS INTESTINALES (D) HE 400X.



El pulmón presentó granulomas múltiples sobre la pleura, similares a las descritas en hígado y serosa del ventrículo.

En el caso del alcaraván (*Chamaepetes g. goudotii*) las lesiones se encontraron en el bazo donde se observaron áreas de necrosis caseosa y células gigantes. En el hígado se observaron áreas nodulares múltiples de necrosis caseosa e hiperplasia de conductos biliares y ligero incremento de tejido fibroso de triadas portales (Figura 7).

FIGURA 7. TUBERCULOSIS AVIAR. HÍGADO DE UN ALCARAVÁN (*BURHINUS BISTRIATUS*) EN EL QUE SE OBSERVA FIBROSIS PORTAL MARCADA E HIPERPLASIA DE CONDUCTOS BILIARES. HE 400X.



También se encontraron lesiones de tipo granulomatoso en el riñón, de características similares a las observadas en los otros órganos.

En el caso de la última pava maraquera (*Chamaepetes goudotii*), se observaron en el bazo áreas de necrosis caseosa y células gigantes diseminadas por todo el órgano y en el hígado, áreas nodulares múltiples con necrosis caseosa, acompañada de hiperplasia de conductos biliares e incremento de tejido fibroso en las triadas portales. En este caso, vale la pena destacar el hallazgo de lesiones de tipo granulomatoso en la médula espinal, consistentes en engrosamiento focal

de las leptomeninges, por la presencia de macrófagos epitelioides y formación de focos granulomatosos constituidos por macrófagos epitelioides de citoplasma bastante amplio y de apariencia espumosa en la sustancia blanca (Figura 7). En todos los órganos en los que se encontraron lesiones granulomatosas se observaron bacilos ácido-alcohol resistentes dentro del citoplasma de los macrófagos y células gigantes con la coloración de ZN (Figura 8).

FIGURA 8. TUBERCULOSIS AVIAR. MÉDULA ESPINAL DE UNA PAVA MARAQUERA (*CHAMAEPETES GOUDOTII*) CON FOCOS GRANULOMATOSOS EN LEPTOMENINGES Y SUSTANCIA BLANCA. HE 100X.

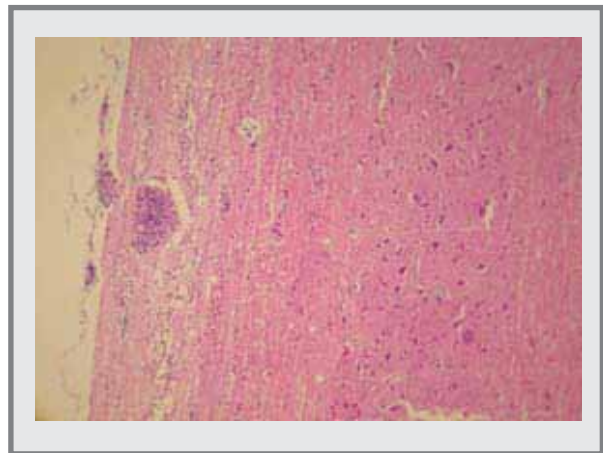


FIGURA 9. TUBERCULOSIS AVIAR. MAYOR AUMENTO DE LA FIGURA ANTERIOR EN LA QUE SE OBSERVAN LOS MACRÓFAGOS EPITELIOIDES. HE 400X.

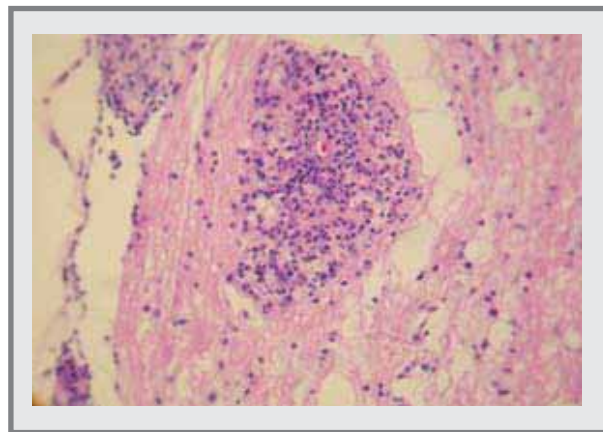
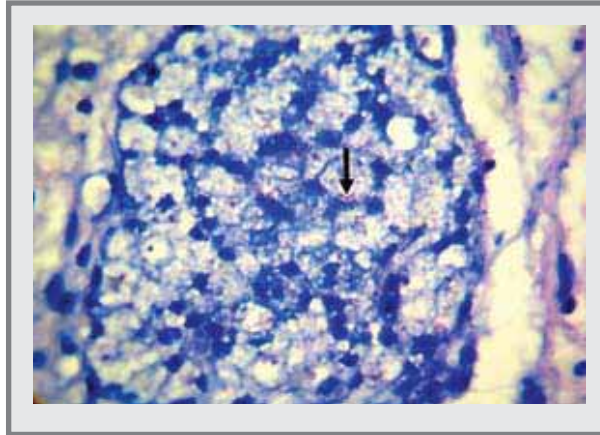


FIGURA 10. TUBERCULOSIS AVIAR. BACIOS ÁCIDO-ALCOHOL RESISTENTES (FLECHA) DENTRO DEL CITOPLASMA DE LOS MACRÓFAGOS DE UNO DE LOS GRANULOMAS DE LA FIGURA ANTERIOR. ZN 1000X.



DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Por la localización de las lesiones en el hígado, tracto gastroentérico, cavidad abdominal y bazo, se puede considerar que la infección tuvo como puerta de entrada la vía digestiva, seguida de distribución linfadenohematógena desarrollándose en hígado y bazo nódulos blanquecinos muy pequeños de menos de 1 mm de diámetro, después de una exposición de 46 semanas.

Esta consideración es muy importante debido a que hubo una proporción significativa de animales del grupo centinela, reactores positivos a la prueba de la tuberculina, en los cuales no se detectaron lesiones, siendo estos animales de edad inferior a un año, pero que al momento de la necropsia las lesiones fueron o muy incipientes o solo fueron detectables en un caso por los estudios histopatológicos.

Las diferentes lesiones encontradas en los animales muertos en el zoológico durante el período del estudio, están de acuerdo con las lesiones reportadas en aves silvestres en cautiverio por Singbeil (1993), Shane *et al.* (1993), Hoenerhoff *et al.* (2004), Marco (2000), Ozcan (2001), Thoen (2001), Sanford (1994), y González

et al. (2002). Fulton *et al.* (2003) y Jordan (1999); sin embargo, se debe destacar, en este trabajo, el hallazgo de lesiones granulomatosas con la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes en la médula espinal de una de las aves (pava maraquera) del encierro problema, ya que no ha sido muy frecuentemente reportada en trabajos anteriores. También se resalta la presencia de focos de mineralización (calcificación) en la parte central de los granulomas tuberculosos, poco frecuentes en las aves, de acuerdo con la literatura consultada.

Las aves del encierro original tuvieron un tiempo cercano a los tres años de exposición al agente causal en el área contaminada y habían hecho diseminación mayor a los diferentes órganos en comparación con las aves centinela que solamente permanecieron en el área contaminada por espacio de 46 semanas. Estos resultados están de acuerdo con Fulton (2003) quien relaciona que la tuberculosis aviar parece ser menos prevalente en animales jóvenes no porque las aves jóvenes sean más resistentes a la infección, sino a causa de que la enfermedad en animales adultos ha tenido una mayor oportunidad para llegar a establecerse a través de un largo período de exposición. Aunque las lesiones tuberculosas son menos severas en animales jóvenes que en animales adultos, se han observado lesiones extensivas y generalizadas aves domésticas jóvenes.

En los resultados obtenidos en el trabajo, se puede confirmar que las aves que murieron en el encierro se contaminaron de los suelos del encierro, constituyéndose en la mayor fuente de infección para las aves susceptibles, si se considera que las aves que inicialmente murieron en el encierro fueron las tinguas y que posiblemente fueron la fuente de infección para los otros animales llegados al encierro por la misma época, (pava maraquera, alcaraván, guacharaca y mochuelo). Esta consideración se soporta por la gran cantidad de bacilos tuberculosos que salen en los exudados de las lesiones de tubérculos ulcerados de los intestinos de las aves, que crean una fuente constante de bacterias patógenas.

Aunque existen otras fuentes de infección ninguna es tan importante como la diseminación de bacilos tuberculosos por medio de la materia fecal. Estas excreciones pueden también contener bacilos tuberculosos provenientes de lesiones del hígado y de la mucosa de la vesícula biliar. El tracto respiratorio es también una fuente de infección, en especial cuando se presentan lesiones en la mucosa bronquial y en los pulmones. Por las anteriores circunstancias

el ambiente es fácilmente contaminado en especial el suelo, las basuras y el agua convirtiéndose en la principal fuente de infección para las aves susceptibles. Según Schalk *et al.*, citados por Fulton *et al.* (2003), las micobacterias aviares en especial el *Mycobacterium avium* pueden permanecer en el suelo por más de cuatro años y en carcasas quemadas y enterradas a un metro de profundidad puede permanecer viable por 27 meses.

BIBLIOGRAFÍA

- Altman, R. Club, S. Dorrestein, G y Quesenberry, K. *Avian Medicine and Surgery. Zoonotic Diseases of Avian Origin*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1997.
- Armed Forces Institute of Pathology. *Laboratory Methods in Histotechnology*. Edna B. Prophet, Bob Mills, Jacquelyn B. Arrington, Leslie H. Sobin. Washington, D.C., 1992.
- Barksdale, L. y Kim, S. "Mycobacterium". *Bacteriological Reviews. American Society for Microbiology* 41. 2. (1977): 217-372.
- Calnek, B.; Barnes, J.; Beard, C.; McDougald, L. y Saif. Y. *Enfermedades de las aves (2a ed.)*. Mexico: Manual Moderno, 2000.
- Dorn, P. *Tuberculosis. Manual de Patología Aviar*. España: Acribia, , 1973.
- Fernández, J.; Ferrer, L.; Raimis, A. y Bottger, E. "Granulomatous Dermatitis caused by *Mycobacterium genavense* in two psittacine birds". *Proceeding American Association of Zoo Veterinarians. Annual conference*. México (1996).
- Fulton, R. y Thoen, O. "Tuberculosis". *Diseases of Poultry. Editor in Chief Saif YM 11th ed. Aiwa State Press*. (2003): 836-844.
- Gerlach, H. *Mycobacterium. In Avian medicine. Principles and Application*. Branson, R.; Harrison, G. y Harrison, L. EE.UU. Weingers Publishing, 1994.
- González, M. *et al.* "Outbreak of Avian Tuberculosis in 48-Week-Old Comercial Layer Hen Flock". *Avian Diseases* 46. 4. (2002): 1055-1061.
- Hoenerhoff, M. *et al.* "Mycobacteriosis" *Bald Eagle (Haliaeetus leucocephalus)* 48. 2. (2004): 437-441.
- Hermoso, J. *Género Mycobacterium. Manual de Microbiología Veterinaria*. Mc Graw Hill, 2002.
- Iañez, E. *Historia de la Microbiología*. <<http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/index.html>>
- Jordan F.; Pattison, M. y Faragher, T. *Mycobacterium avium – Avian Tuberculosis In Poultry Diseases* (5th ed.) W. B. Saunders (1999).
- Kearns, S. y Loudis, B. *Avian Mycobacteriosis. Recent Advances in Avian Infectious Diseases*. NY. <<http://www.ivis.org>>
- Lozano, F.; Rodríguez, G.; González, H. y Aparicio, G. "Descripción de lesiones macroscópicas y microscópicas del Primer Brote de Tuberculosis Bovina en Colombia". *ACOVEZ* 6 22. (1982): 5-21.
- Marco, I.; Domingo, M. y Lavin, S. "Mycobacterium Infection in a Captive Rered Capercaillie (Tetrao urugallus)". *Avian Diseases* 44 1. (2000): 227-230.
- Maslow, J. *Tuberculosis and other Mycobacteria as Zoonoses. Proceeding American Association of Zoo Veterinarians*. Texas: Annual conference, 1997.

- Murray, P.; Kobayashi, G.; Pfaller, M. y Rosental, K. *Microbiología Médica* (2 ed.) Harcourt Brace 1997.
- Ozcan, K.; Beytut, E.; Aydin, F. y Tuzco, M. *Tuberculosis in Geese (Anser anser) in Turkey*. *Avian Diseases*. 45. 3. (2001): 755-759.
- Ramis, A. *et al.* "Mycobacterium genavense Infection in Canaries". *Avian Diseases* 40 1 (1) 246-251
- Rodríguez, G.; Lozano, F.; González, H. y Aparicio, G. "Tuberculosis Bovina en Colombia. Aislamiento y Tipificación del *Mycobacterium bovis* en el Valle de Ubaté". *ACOVEZ* 3. 9. (1979): 11-15.
- Samuelson, J. y Von, F. "Tuberculosis". *Patología Estructural y Funcional Robbins. Cotran R, Kumar, V and Robbins*. Madrid (1995).
- Sanford, S.; Rehmtulla, A. y Gaylan, K. "Tuberculosis in Farmed Rheas (Rhea Americana)" *Avian Diseases* 38 2. (1994): 193-196.
- Schmith, R.; Reavill, D. y Phalen, D. *Pathology of pets and Aviary Birds. Department of Large Animals*. Iowa: Medicine and Surgery College of Veterinary Medicine, 2003.
- Shane, S.; Camus, A.; Strain, M. Thoen, O. y Tully, T. *Tuberculosis in Commercial Emus (Dromaius novahollandiae)* 37 (1993): 1172-1176.
- Singbeil, B.; Bickford, A. y Stoltz, J. "Isolation of Mycobacterium avium from Ringneck Pheasants (Phasianus colchicus)" *Avian Diseases* 37. (1993): 612-615.
- Tell, L.; Woods, L. y Cromie, R. "Micobacteriosis en Aves". *Revista Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 20(1): 180-203. <<http://www.oie.int/esp/publicat/RT/2001>> [04/08/2005]
- Thoen, C.; Karlson, A.; Himes, E. "Mycobacterial Infections in Animals". *Journal Infectious Diseases* 3. (1981): 960-972.
- Thoen, C. "Tuberculosis". *Enfermedades de las Aves. Calnek, B Barnes, J., Beard, C., Mc Dougald, L. y Saif Y. Traducida por: Antonio Lemus. Manual Moderno, México.*
- - -. "Tuberculosis". *Enfermedades de las Aves* (2003): 167-179.
- Vadillo, S.; Piriz, S. y Mateus, E. *Manual de Microbiología Veterinaria*. Mc Graw Hill, 2002.