

Estudio de la tuberculosis aviar en un zoológico de la sabana de Bogotá, mediante la técnica de la tuberculinización y la vigilancia epidemiológica activa

Germán Rodríguez Martínez¹/ Clara Inés León Franco²/ Martha Inirida Guerrero Guerrero³/ Rafael Neira Rairán⁴/ Leonardo Arias Bernal⁵/ Ángela del Pilar Silva Igua⁶

Resumen

El flujo de aves silvestres constituye una debilidad en la vigilancia epidemiológica, pues se desconoce su potencial como fuente de diseminación de enfermedades. Se hizo un seguimiento epidemiológico de la población aviar existente en un encierro mixto silvestre de un zoológico ubicado en la Sabana de Bogotá, donde tres aves murieron con diagnóstico presuntivo de tuberculosis. A fin de comprobar la presencia de *Mycobacterium avium* y proyectar las medidas para evitar los factores de riesgo, se utilizó un grupo control de exposición previa de cinco aves domésticas raza Hy line Brown, un grupo centinela de diez aves domésticas del mismo lote del grupo control, un grupo control externo, constituido por 102 aves de los encierros vecinos al área problema. Se realizaron estudios retrospectivos y prospectivos, mediante análisis histopatológicos, microbiológicos, epidemiológicos y moleculares. El 100% de las aves del encierro original que murieron se les confirmó genotípicamente tuberculosis, causada por *Mycobacterium avium*. Del grupo centinela, 35,5% resultaron afectadas por *Mycobacterium avium*, 28,6% por *Mycobacterium gordonae*, 14,3% por *Mycobacterium chelonae* y un 21,4% por una micobacteria de difícil clasificación. Los animales de fuera del encierro no mostraron ningún indicio de infección. Se concluye que el encierro problema se encuentra afectado por tuberculosis aviar y se constituye en un foco de alto riesgo, tanto para aves como para los humanos. También, las aves domésticas utilizadas como centinelas son muy buenos detectores de agentes infecciosos, en particular, de las micobacterias presentes en el medio ambiente y la prueba de tuberculinización es un buen indicador de infección con este tipo de microorganismos en aves domésticas.

Palabras clave: tuberculosis aviar, animales centinelas, tuberculinización.

1 Médico Veterinario Zootecnista, MSc, Ph.D. Director posgrados Universidad de La Salle.
✉ grodriguez@lasalle.edu.co

2 Bacterióloga, MSc, del Instituto Nacional de Salud.
✉ clarainesleon@yahoo.com.

3 Bacterióloga MSc, del Instituto Nacional de Salud.
✉ marthainirida@yahoo.com

4 Médico Veterinario, MSc, catedrático, de la Universidad de La Salle.
✉ rafael_neira@yahoo.es

5 Médico Veterinario, especialista, Zoológico Jaime Duque, catedrático, de la Universidad de La Salle.
✉ larias@lasalle.edu.co

6 Médico Veterinario, ejercicio particular.
✉ araigua@yahoo.com.br

Study of Avian Tuberculosis in a Zoo at the Bogota savannah through Tuberculin Testing and Active Epidemiologic Surveillance

Abstract

The flow of wild birds is a weakness in epidemiologic surveillance because of its unknown potential as a source of disease dissemination. The investigation focused on an epidemiological tracking of the mixed wild bird population in a zoo in the Bogota Savannah, where three birds died with a presumptive diagnosis of tuberculosis. In order to verify the presence of *Mycobacterium avium* and to plan the required measures to avoid risk factors, a control group of five poultry birds of the Hy Line Brown variety that had already been exposed was used, as well

as a sentinel group of the poultry birds from the same batch as the control group, and an external control group of 102 birds from cages near the area of the problem. Retrospective and prospective studies were carried out through histopathological, microbiological, epidemiological and molecular analysis. One hundred percent (100%) of the birds from the original cages that died were genotypically diagnosed with tuberculosis caused by *Mycobacterium avium*. Thirty-five percent (35.5%) of the sentinel group was affected by *Mycobacterium avium*, 28.6% by *Mycobacterium gordonae*, 14.3% by *Mycobacterium chelonae* and 21.4% by a mycobacterium that is very difficult to classify. The other animals outside the cage showed no evidence of infection. It is concluded that the problematic enclosure is affected by avian tuberculosis, which is of high risk both for birds and for humans. The poultry used as sentinels are excellent infective agent detectors, particularly of mycobacteria present in the environment, and the tuberculin test is a good indicator of infection with this type of microorganisms in poultry.

Key words: avian tuberculosis, sentinel animals, tuberculin test.

INTRODUCCIÓN

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

La constante situación de estrés que enfrentan los animales en cautiverio no solo por este hecho, sino también 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, las cuales, con frecuencia, se salen de las posibilidades médicas, lo que lleva a la pérdida del paciente e, incluso, como en este caso, pueden comprometer la salud de la población animal y humana.

La característica particular de desplazamiento extenso que poseen las aves hace que sean potencialmente diseminadoras de agentes infecciosos, por tanto, se requiere de la vigilancia epidemiológica, la

cual dinamiza la interacción constante que involucra al huésped, el medio ambiente, al agente infeccioso y ayuda a determinar la importancia, para establecer las fuentes de riesgo, hacia la población susceptible para establecer las medidas de control, enfocadas a una medicina preventiva.

La investigación buscó comprobar la presencia de *Mycobacterium avium* en la población aviar que ha sido afectada en un encierro mixto de fauna silvestre, ya que existen registros de tres casos (un alcaraván y dos tinguas azules) compatibles con lesiones a la necropsia y la evidencia histopatológica de la presencia del bacilo ácido alcohol resistente en los reportes de necropsia, mediante la aplicación de estudios histopatológicos microbiológicos epidemiológicos y moleculares y la utilización de animales centinelas (aves domésticas) y así proyectar una serie de medidas para evitar los factores de riesgo, tanto para los animales como para las personas, que en forma directa o indirecta tienen que ver con el manejo de dichos animales y del encierro

HISTORIA Y GENERALIDADES DE LA TUBERCULOSIS AVIAR

Durante el siglo XIX, Pasteur y Koch (citados en Iañez, 1998) definieron la existencia de una serie

de bacterias que intervienen como agentes específicos en la producción de enfermedades y que estas se podían 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 publicó un artículo, titulado *Die Athiologie der Tuberkulose* (citado en Barsdale y Kim, 1977), en el que hizo una célebre comunicación que señaló el comienzo de una época en la biología y también afirmaba que la causa de la tuberculosis del hombre y del bovino era un parásito bacteriano: el bacilo de la tuberculosis. Este autor sostuvo, durante algunos años, que los bacilos tuberculosos eran siempre los mismos, cualquiera que fuera la especie en que se encontraran. El hecho de 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.

En aquel tiempo, la tuberculosis de la aves, estudiada en gallinas domésticas, no quedó definitivamente establecida como entidad nosológica distinta, hasta 1883, cuando Rivolta, y más tarde Maffucci en 1890 (citados en 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 distingue de la que ataca a la especie bovina (Feldman, 1964).

Aunque, desde hace tiempo, se reconoce 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, debido a que afecta aves que están cerca de la extinción y, además, produce su mortandad. Los problemas de manejo para el control se hacen mayores, pues, a menudo, las especies exóticas 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 mayores, por medio de 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).

Por último, se tuberculinizó la población aviar del zoológico próxima al encierro, donde se detectó el problema para descartar o confirmar alguna exposición a *Mycobacterium avium*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio en aves que habitaron el encierro

Se realizó un estudio retrospectivo de los casos compatibles con tuberculosis procedentes del zoológico y procesados en la Universidad de La Salle y, a su vez, se realizó un estudio molecular con base en los bloques de tejidos en parafina, correspondientes a esos casos reconfirmados por el patólogo y procesados en el Instituto Nacional de Salud, mediante las técnicas de PCR, para identificar el genotipo de *Mycobacterium* presente en el encierro (figura 1).

Figura 1. Área del encierro donde se reportó la muerte de aves en el zoológico



Estudio de la población aviar restante del zoológico para determinar exposición al agente en aves tuberculinizadas

El objetivo de esta prueba fue evaluar posibilidades de diseminación enfrentando el sistema inmune de los individuos al Derivado Proteico Purificado (DPP) de *Mycobacterium avium* en dosis de 2000 UI (OIE, 2004), el cual reaccionaría con una respuesta inflamatoria local, de haber estado en contacto con el bacilo. Para iniciar la aplicación de la prueba en las aves, se tomaron cinco patos domésticos como grupo control; a estos patos se les administraron 0,05 ml de DPP de *M. avium* vía intradérmica, cuatro de ellos alrededor de la cloaca y uno en el parpado inferior. Los animales se mantuvieron aislados y la reacción se observó a las 48 horas. Ninguno de ellos presentó reacción positiva.

A partir de esta experiencia, se decidió que el sitio de inoculación sería la piel del lado derecho cerca a la cloaca —por facilidad en la práctica— y que se apli-

carían 0,1 ml del DPP. La aguja utilizada fue de insulina calibre 27. En el caso de los loros y las aves pequeñas del encierro, se emplearon agujas calibre 29.

Se utilizó DPP aviar (derivado proteico purificado de *M. avium*) y DPP bovino (derivado proteico purificado de *M. bovis*), producido por CSL de Australia e importado por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), entidad que apoyo este estudio, para 102 aves y diecinueve tortugas morrocoy.

Procedimiento: se determinó exposición en las siguientes poblaciones: patos (veintiocho), guacamayas (veinticinco), loros (veintiséis), aves rapaces (veintitrés). Dentro del grupo de las rapaces, se encuentran águilas (cinco), de diferentes especies, carracos (cuatro), rey de gallinazos (cinco), lechuza de campanario (uno), buho carnudo (uno), milvago (dos), gavilán grillero (uno), gavilán blanco (uno).

Captura con nasa de las aves (una a una) de los diferentes encierros cercanos al encierro afectado,

inmovilización (figura 2) y aplicación de 0,1 ml de DPP de *M. avium* en barbilla, en aquellas aves que la poseen y en la región pericloacal, para el resto de los animales. La interpretación de respuesta intradérmica se realizó a las 48 horas de la siguiente forma: reacción positiva: cualquier inflamación, desde un nódulo firme de aproximadamente 5 mm de diámetro, a un gran edema que se extiende en toda la zona. Reacción negativa, ninguna inflamación en el sitio de inoculación.

Se realizó el análisis de riesgo epidemiológico, evaluando posibilidades de diseminación del agente y muestreando las aves que habitan el encierro donde se presentaron los casos y se tuberculinizó el 10% de la población aviar del zoológico próxima al encierro donde se detectó el problema, para descartar o confirmar alguna exposición a *Mycobacterium avium*.

Tabla 1. Resultado de la tuberculinización en las aves del encierro utilizando DPP de *M. avium*

Nombre científico	Nombre común	Total individuos en la colección	N° individuos tuberculinizados	Individuos positivos
<i>Anas spp.</i>	Pato doméstico	21	17	0
<i>Ara ararauna</i>	Guacamaya pechiamarilla	17	15	0
<i>Ara macao</i>	Guacamaya roja aliamarilla	5	5	0
<i>Ara chloroptera</i>	Guacamaya roja aliverde	2	2	0
<i>Ara militaris</i>	Guacamaya verde oscura	1	1	0
<i>Ara ambigua</i>	Guacamaya verde limón	1	1	0
<i>Amazona ocrecephala</i>	Loro real	15	15	1
<i>Amazona amazonica</i>	Lora alianaranjada	10	10	0
<i>Amazona autumnales</i>	Lora frentirroja	1	1	0
<i>Polyborus plancus</i>	Carraco	2	2	0
<i>Buteo magnirostris</i>	Gavilán grillero	1	1	0
<i>Milvago chimachima</i>	Halcón garrapatero	3	3	0
<i>Bubo virginianus</i>	Búho cornudo	1	1	0
<i>Tyto alba</i>	Lechuza de campanario	1	1	0
<i>Phalcoboenus carunculados</i>	Carraco de páramo	2	2	0
<i>Buteogallus urobitinga</i>	Águila negra	1	1	0
<i>Buteogallus meridionales</i>	Halcón cangrejero	2	2	0
<i>Leucopternis albicollis</i>	Gavilán blanco	1	1	0
<i>Geranoaetus melanoleucus</i>	Águila de páramo	3	3	0
<i>Sarcoramphus papa</i>	Rey de gallinazos	5	5	0
<i>Burhinus bistriatus</i>	Alcaraván	1	1	0
<i>Speotito cunicularia</i>	Mochuelo de hoyo	1	1	1
<i>Chamaepetes. goudotii</i>	Pava maraquera	1	1	1
<i>Gallus domesticus</i>	Gallinas domésticas (centinelas)		9 (1)	0
<i>Gallus domesticus</i>	Gallinas domésticas (centinelas)		8	8
	Total	98	(92) 101	11

Figura 2. Forma de sujeción de las aves del zoológico durante el procesamiento de la prueba tuberculínica



En relación con el número de animales tuberculizados, se tiene los siguientes datos: del grupo de animales pertenecientes al encierro estable del zoológico, se lograron tuberculizar 92 animales, de los cuales tres (3,3%) dieron reacción positiva a la lectura a las 48 horas, presentando en el sitio de inoculación una inflamación edematosa en la región de la cloaca mayor a 5mm. Dos de los animales positivos hacían parte del encierro problema y una correspondía al grupo de los encierros externos, pero la reacción fue más discreta.

Para tener en cuenta en la interpretación de los resultados, está el caso del alcaraván (*Burhinus bistriatus*), el cual se encontraba dentro del encierro problema y que manifestaba un estado de cojera. Dicho animal dio resultado negativo a la prueba de la tuberculización, pero que al momento de su muerte, presentó un cuadro invasivo de granulomas miliares y con resultado positivo a tuberculosis causado por *M. avium*. Esta observación está de

acuerdo con los escritos de Thoen (2002), quien referencia casos de animales completamente invadidos y que no presentan reacciones positivas a la tuberculina.

Estudio experimental: aves centinelas

El grupo experimental estuvo constituido por quince (100%) pollitas de raza Hy-line Brown, vacunadas contra la enfermedad de Marek en la granja de procedencia y fueron compradas al inicio del estudio en Tabio Cundinamarca a un pequeño productor privado en su explotación de tipo tradicional, en la cual las aves se desarrollan gran parte al aire libre. Las pollitas a los dos días de edad (aparentemente sanas) fueron divididas en dos grupos:

- 1) Grupo control de exposición previa al agente.
- 2) Grupo de centinelas.

Grupo control de exposición previa al agente

Este grupo se diseñó a fin de descartar previa infección con el género *Mycobacterium* en el grupo experimental, es decir, antes de ingresar al encierro en estudio ubicado en el zoológico.

El grupo lo conformaron cinco pollitas (33,3%), elegidas al azar entre las quince adquiridas como grupo experimental. Estas pollitas fueron llevadas directamente de la granja donde se adquirieron al lugar donde se sacrificaron, con el objeto de realizar la necropsia en busca de lesiones compatibles con procesos de tipo granulomatoso y de tomar muestras de tejido esplénico, hepático, entérico, sanguíneo y pulmonar, los cuales se procesaron, sembraron en medio de cultivo y se sometieron a extracción de ADN, con el cual se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa. Asimismo, otra parte de estos animales se llevó al laboratorio de Patología de la Universidad de La Salle donde se procesaron las láminas que fueron inicialmente teñidas con Hematoxilina y eosina (H-E), diagnosticadas por el patólogo y luego coloreadas con Ziehl Neelsen para evidenciar organismos ácido alcohol resistentes.

Grupo de centinelas

Este grupo lo conformaron las restantes diez aves del grupo experimental y fue transportado directamente de la granja donde se adquirieron al encierro en estudio ubicado en el zoológico. Una vez allí, las aves se instalaron en un encierro móvil, sin piso (para permitir el contacto directo con el suelo), construido en malla electro soldada, de aproximadamente 3,50 m de largo x 1,50 m de ancho y 50 cm de altura, donde se les instaló bebedero y comedero. Allí, permanecieron a lo largo de 49 semanas. Se vacunaron a los dos días de edad contra New Castle cepa B1 y revacunaron con la misma cepa al mes de edad.

Las aves se observaron inicialmente todos los días; luego, cada tercer día y algunas semanas el lapso de tiempo fue más amplio. Durante la observación, las aves se liberaban del encierro móvil y se dejaban recorrer el encierro en estudio durante aproximadamente una hora o más, lo que les permitió entrar en contacto con el suelo y la materia fecal de los habitantes del encierro (cuatro aves y diecinueve tortugas).

En cuanto a la alimentación, inicialmente, se les administró concentrado de levante y a las 18 semanas se inició la alimentación con concentrado de postura del mismo tipo administrado a las aves del zoológico. El consumo semanal se proporcionó de acuerdo con la tabla de alimentación diseñada para la raza. La postura se inició al cuarto mes. En las aves centinelas, por tener una mejor opción para el sitio de aplicación del DPP de *M. avium*, fue elegida la zona de las barbillas utilizando como referencia la barbilla derecha, donde varios investigadores han realizado esta prueba con muy buenos resultados en esta especie (Thoen 2003, OIE 2004).

A los cuatro meses de observación, se encontró muerta en el encierro una de las centinelas; se realizó la necropsia y se tomaron las muestras de hígado, bazo, intestino y pulmón para su posterior estudio histopatológico, microbiológico y molecular. Al séptimo mes, estas aves fueron tuberculinizadas con PPD de *Mycobacterium avium* sin que a la lectura a las 48 horas, se encontrara reacción positiva en alguna de las aves.

Al noveno mes de observación, murió otra de las centinelas, habiendo manifestado depresión marcada y anorexia. Las demás aves manifestaban mala condición corporal y diarrea color verde oscuro. Para ese tiempo se programó una segunda aplicación de PPD aviar y se encontró respuesta de hipersensibilidad retardada a las 48 horas de la lectura en las ocho centinelas tuberculinizadas. Se

repetió la lectura a las 72 horas posinoculación y se observó que la respuesta, a pesar de mantenerse, positiva fue menos intensa.

Se programó tuberculinizar esta población de nuevo a los 60 días, cambiando el sitio de inoculación y aplicándola en cuatro aves en la zona cercana a la cloaca y las otras cuatro restantes realizando una tuberculinización doble en las barbillas, considerando dos derivados proteicos purificados, uno de DPP de *M. avium* y un DPP de *M. bovis* con el propósito de ver reacciones cruzadas en estos animales. Se aplicó la tuberculina aviar en la barbilla derecha y el DPP de *M. bovis* en la barbilla izquierda.

A las 48 horas, se encontró que tan solo tres aves tuberculinizadas comparativamente reaccionaron positivamente, las otras cuatro, cuyo sitio de aplicación fue cercano a la cloaca manifestaron leve inflamación.

En el mes doce del estudio, se toman las muestras sanguíneas mediante punción de la vena ulnar y finalmente al término del mismo mes se sacrifican las ocho centinelas con sobredosis anestésica. Se procedió a realizar la necropsia y tomar muestras de hígado, pulmón, bazo e intestino que se destinaron a estudio histopatológico, microbiológico y molecular.

Se logró la infección de pollitas (aves domésticas) centinelas de un día de nacidas, expuestas al agente infeccioso en el encierro mixto de fauna silvestre durante un periodo de 49 semanas, previo descarte de infección anterior de éstas con el propósito de conocer la viabilidad del agente en el medio ambiente del zoológico.

En relación con la primera tuberculinización de las nueve aves centinelas localizadas dentro del encierro problema, realizado el séptimo mes, los animales no dieron lectura positiva lo que está a favor del establecimiento inicial de la infección. Con este

grupo de animales, se programó una segunda tuberculinización utilizando el mismo DPP de *M. avium* dos meses después de la primera aplicación, la razón de realizar una segunda tuberculinización está de acuerdo con la literatura en la cual referencian que las pruebas en aves se pueden repetir a intervalos de 30 días, sin que se presenten reacciones falsas positivas. En el noveno mes, se aplica el DPP de *M. avium* en la barbilla derecha a cada una de las aves centinelas. A las 48 horas se hace la lectura y todas las aves presentan un edema generalizado en la barbilla derecha y con un aumento superior a ocho milímetros de diámetro, considerando esta reacción como positiva. Para este tiempo, habían muerto antes de la segunda tuberculinización dos animales centinelas, los cuales fueron necropsiados y enviadas las diferentes muestras a los laboratorios respectivos.

Como proceso experimental exploratorio se realizó una tercera tuberculinización de tipo comparativo en cuatro aves centinelas, a las que se le aplicaron dos tipos diferentes de tuberculinas después de treinta días de la segunda tuberculinización. En la barbilla derecha, se aplicó DPP de *M. avium* y en la barbilla izquierda se aplicó DPP de *M. bovis*. La lectura se hizo a las 48 horas y en los dos sitios de aplicación; las barbillas presentaron edema generalizado con un aumento del tamaño de las barbillas de 10 mm, en promedio, considerando el resultado positivo (figuras 3 y 4).

Es de anotar que no se presentó ninguna diferencia entre las barbillas que recibieron los diferentes inóculos, lo que está de acuerdo con las observaciones reportadas por Thoen (2002), en las que escribe que la aplicación frecuente de dosis de tuberculina en pollos no sensibiliza a las aves no tuberculosas a inyecciones posteriores del mismo producto y que diferentes tipos de tuberculinas aplicadas en los pollos dan reacciones positivas en las barbillas.

Figura 3. Reacción positiva de hipersensibilidad retardada en aves tuberculinizadas con DPP de *M. avium* a las 48 horas post inoculación



Figura 4. Reacción de hipersensibilidad retardada en un ave a la que se le aplicó dos tipos diferentes de DPP uno aviar y otro bovino



Nota: La lectura se hizo a las 48 horas.

Figura 5. Reacción de hipersensibilidad en el área de la cloaca donde se aplicó DPP de *M. avium*



La tuberculinización hace referencia a la reacción dada por individuos que han sido infectados con anterioridad y continúan alejando microbacterias viables en algún tejido. La prueba consiste en la inoculación intradérmica de 0,1 ml de tuberculina aviar (DPP *M. avium*) en la parte inferior de una de las barbillas de las aves, utilizando una aguja de calibre 27 y de un centímetro de longitud. La otra barbilla no inoculada sirve como control negativo. Siempre cuando se realice este tipo de pruebas se sugiere aplicar la prueba en una sola barbilla y a un mismo lado para evitar errores al momento de la lectura. La lectura se hace a las 48 horas después de la inyección del DPP *M. avium* mediante palpación con la cual se detectará inflamación edematosa, acompañada de calor, lo que incrementa su tamaño dos a tres veces, al compararla con la barbilla control, como se observa en la figura 2. Sin embargo, se debe tener en cuenta que, en casos de invasión masiva o estados de infección avanzada, es posible que los animales no reaccionen a la prueba, como en el caso del alcaraván (*Burhinus bistriatus*), que

no manifestó ninguna reacción tuberculínica a las 48 horas, pero fue uno de los animales muertos del encierro y que a la hora de la necropsia se encontró invadido por formas granulomatosas y que al estudio histopatológico y microbiológico se confirmó como afectado por tuberculosis del tipo *M. avium* tipo II (Silva, 2009).

Para el caso de las aves que habitan en el zoológico fuera del encierro problema, se determinó que la prueba de tuberculinización se aplicaría por la vía intradérmica al lado de la cloaca en el lado derecho, debido a que la mayoría de las aves del zoológico no poseen barbillas. No se escogió la piel del párpado por la dificultad que se tiene para eliminar las plumas del área y la posible irritación que se puede generar en el sitio, dando posibles falsos positivos al momento de la lectura. Sin embargo, al no encontrar reacciones positivas en los animales tuberculinizados, no se descarta la posibilidad que en un futuro se encuentren otras especies de aves comprometidas con procesos tuberculosos, cuan-

do se logren mejorar los procesos diagnósticos, en los que se puedan aplicar extractos de las micobacterias y se pueda determinar un sitio de aplicación que permita tener resultados más confiables y sin traumatizar a los animales, en especial a las aves silvestres.

Para el caso de la utilización de las aves domésticas, como animales centinelas, se encontró un buen aporte con este tipo de animales, debido a que se lograron infectar al entrar en contacto con la tierra donde habían estado las aves silvestres detectadas como animales muertos por tuberculosis. Con el seguimiento que se hizo con este tipo de animales, se confirmaron por pruebas histopatológicas y microbiológicas que dichos animales estaban libres de micobacterias, al ser sacrificados cinco de los quince animales que fueron adquiridos para el estudio. En cuanto a los estudios de tuberculinización, se pudo demostrar que los animales que se ubicaron dentro del encierro problema no mostraron a las 16 semanas del encierro ninguna reacción tuberculínica cuando se les aplicó el DPP de *M avium* en la barbilla derecha y se realizó la lectura a las 48 horas.

Cuando se decidió realizar una nueva tuberculinización a las 36 semanas y teniendo en cuenta los conceptos registrados por Thoen (2001), referencia que cuando se repiten las pruebas de tuberculina después de un mes en los mismos animales, no se presentan reacciones falsas positivas y que en pollos las dosis repetidas de tuberculina no sensibilizan a las aves no tuberculosas a inyecciones posteriores del mismo producto; todos los animales centinelas tuberculinizados (nueve en total) presentaron diferentes grados de inflamación de las barbillas derechas a las 48 horas.

Con las consideraciones anteriores se quiso realizar un ensayo en cuatro animales centinelas que habían presentado inflamación en la barbilla derecha, el cual consistió en aplicar en forma simultá-

nea en cada una de las barbillas un DPP de *M avium* en las barbillas derechas y un DPP de *M .bovis* en las barbillas izquierdas. La lectura se llevó a cabo a las 48 horas y se encontró que ambas barbillas reaccionaron en una forma muy similar presentando un edema inflamatorio, lo que hizo pensar en la poca especificidad que tiene esta prueba al momento de ser utilizada en campo de forma comparativa en aves domésticas.

Estudio histopatológico de las aves centinelas

Al llevar a cabo un análisis de los resultados histopatológicos de las aves centinelas, realizado por Neira R. et ál. (2006) y de la correspondiente identificación fenotípica (Silva A., 2009), se pudo establecer que la infección con *Mycobacterium gordonae* no pigmentado, se relacionó con una ligera depleción linfóide, enteritis granulomatosa e infiltrado mononuclear.

Para el caso del ave centinela, en el que se realizó el aislamiento de *Mycobacterium chelonae* se encontró infiltrado polimorfonuclear, fibrosis e hiperplasia de los conductos biliares. En las aves centinelas en las que se aisló un tipo de micobacteria sp (sin clasificar), los hallazgos histopatológicos fueron hiperplasia de agregados linfoides peribronquiales acompañados de congestión generalizada.

En un caso de aislamiento de *Mycobacterium avium-intracellulare*, no se encontraron alteraciones histopatológicas. Examinando el resultado histopatológico obtenido en las aves centinelas y al relacionarlo con la identificación genotípica, se encontró que, según las muestras, el *Mycobacterium avium 1* se asoció en un caso a una ausencia de lesiones y en el otro caso a una ligera depleción linfóide. En cuanto al *Mycobacterium avium 2*, un caso se relacionó con ausencia de lesiones y el otro caso a una pleuritis.

En el caso de las aves con aislamiento de *Mycobacterium chelonae*, en una se presentó fibrosis e hiperplasia de conductos biliares y en la otra ave una depleción linfoide. Para el caso de las aves centinelas, en las que se aisló y confirmó por genotipificación *Mycobacterium gordonae* 4, las lesiones se relacionaron con una enteritis, acompañados por infiltrado mononuclear, ligera depleción linfoide e hiperplasia de agregados bronquiales perivasculares

Para el caso de la especie de micobacteria reportada como *Mycobacterium* spp. (sin clasificar), se asoció con depleción linfoide, esplenitis granulomatosa e infiltrado polimorfonuclear (Neira et ál., 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las aves del grupo 1, se obtuvo una positividad del 43,8% de las muestras procesadas, mientras que en el grupo 3 (aves centinelas) fue del 30,4%. Probablemente, esta diferencia es debida a que 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 centinelas que solamente permanecieron en el área contaminada, por espacio de 50 semanas. Estos resultados están de acuerdo con Fulton (2001) que relaciona que la tuberculosis aviar parece ser menos prevalente en animales jóvenes, no como causa que las aves jóvenes sean más resistentes a la infección, sino porque la enfermedad en animales adultos ha tenido una mayor oportunidad para llegar a establecerse a lo largo de un largo periodo de exposición. Aunque las lesiones tuberculosas son menos severas en animales jóvenes que en animales adultos, se han tenido observaciones de 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 debieron a una contaminación de los suelos del encierro y que se constituyeron 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 marquera, 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 virulentas.

Aunque existen otras fuentes de infección, ninguna es tan importante como la diseminación de bacilos tuberculosos por medio de la materia fecal. Estas excreciones también pueden contener bacilos tuberculosos provenientes de lesiones del hígado y de la mucosa de la vesícula biliar a través del conducto de la bilis. Asimismo, el tracto respiratorio es 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 (Agudelo, 2008).

Según Schalk et ál. (citados en Fulton et ál., 2001), 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. En el caso del zoológico en estudio, se lograron aislar *Mycobacterium avium* tipo 3, de las muestras de tierra tomadas en superficie y a 5 y 10 cm de profundidad y de muestras del agua de bebida *Mycobacterium fortuitum* tipo 1 (Agudelo, 2008).

En el caso de los diferentes tipos micobacterias aisladas en las aves centinelas *M. avium* 1 y *M. avium* 2,

M. gordonae y *M. chelonae* (Silva, 2009), hace pensar que existe una gran contaminación de micobacterias que pueden explicar su presencia en el ambiente del encierro así: el *M. avium* 1, y 2 se deben a los casos de tuberculosis aviar que afectó a todas las aves del encierro original y que todas murieron por una enfermedad compatible con tuberculosis, dejando viables en el ambiente este tipo de microorganismos que fueron detectados y los cuales, a la vez, fueron fuente de infección para algunas de las aves centinelas. En el caso del *M. gordonae* tipo 4, este tipo de microorganismo se encuentra asociado al agua y según las condiciones medio ambientales, es factible que sea el agua de bebida la fuente de infección (Agudelo 2008, Silva 2009).

En cuanto a la presencia de *M. chelonae*, no se descarta la presencia de esta micobacteria en el ambiente, debido a la presencia en el encierro de diecinueve tortugas (Morrocoy), desde 1989, las cuales son portadoras sanas y en algunos casos pueden desarrollar tuberculosis cutánea (Agudelo, 2008). En cuanto a la prueba de tuberculinización, cabe anotar que la tuberculina DPP de *M. avium*, presentó una reacción positiva en todas las aves centinelas, al ser aplicada por la vía intradérmica, después de llevar 9 meses en el encierro, sin embargo, al cruzar los datos de los aislamientos confirmados por PCR y las lecturas de la prueba a las 48 horas de inoculación, no se encuentra una lectura definida que esté a favor de los casos registrados como causados por *M. avium*. Por tanto,

la prueba de tuberculinización sirve como una prueba orientadora de la presencia de micobacterias, pero no es específica para tomar una determinación sobre la base de la lectura positiva y que se debe complementar la prueba con técnicas de mayor sensibilidad, como las pruebas de PCR (Silva, 2009).

También se quiso realizar una comparación de la reacción cuando se aplican diferentes tuberculinas en aves que, con anterioridad, dieron reacción positiva a la prueba (más de 75 días) y que, para este caso, fueron DPP de *M. avium* y DPP de *M. bovis*, para lo cual se aplicaron las dos tuberculinas, tomando como referencia la barbilla derecha para DPP de *M. avium* y la barbilla izquierda para el DPP de *M. bovis*. Las dos reacciones fueron muy similares, lo que deja pensar que no existe una especificidad de reacción ante las tuberculinas cuando se hacen aplicaciones comparativas, como se hace en otros animales, como los bovinos.

Por último, se concluye que las aves domésticas utilizadas como centinelas son muy valiosas en la detección de diferentes tipos de micobacterias que se encuentran asociadas al medio ambiente (suelo y las aguas) en estudios epidemiológicos orientados al conocimiento de agentes bacterianos y que los animales deben permanecer por un período mayor a un año en el sitio en estudio para lograr un buen contacto con los agentes presentes en el medio ambiente.

REFERENCIAS

Acha P., S. (1997). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (2ª ed., publicación científica 503). Washington: OPS-OMS.

Agudelo, N.A., Rodríguez G. y Arias, L. (2008). Identificación de *Mycobacterium* sp. en una población de tortugas morrocoy (*Geochelone carbonaria*) en cau-

- tiverio y en su entorno, en un zoológico en la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria* 15, 21-38
- Altman, R. Club, S. Dorrestein, G. y Quesenberry, K. (1997). *Avian Medicine and Surgery. Zoonotic Diseases of Avian Origin*. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Calneck, B., Barnes, H., Beard, C., McDougald, L y Saif, Y. (2000). *Enfermedades de las aves* (2ª ed., A. Lemus Gamboa, trad.). México D.F.: Manual Moderno.
- Dorn, P. (1973). Tuberculosis. En *Manual de Patología Aviar* (J. Romero, trad.). Madrid: Acribia.
- Fernández, J., Ferrer, L., Raimis, A. y Bottger, E. (1996, nov.). Granulomatous Dermatitis caused by *Mycobacterium genavense* in two psittacine birds. *Proceeding American Association of Zoo Veterinarians*. México: Annual conference.
- Fulton, R.M. y Thoen, Ch O. (2003). Tuberculosis. In: *Diseases of Poultry. Editor in Chief Saif YM* (11th ed.). Aiwa State Press.
- Gerlach, H. (1994). Mycobacterium. En R. Branson, G. Harrison y L. Harrison. *Avian medicine. Principles and Application*. USA: Weingers Publishing. INC.
- Hoenerhoff, M., Kiupel, M., Sikarkie, J., Bolin, C., Simmons, H. y Fitzgerald, S. (2004). *Mycobacteriosis in an Bald Eagle (Haliaeetus leucocephalus)* 48 (2),437-441.
- Hermoso de, M.J. (2002). Género Mycobacterium. En S. Vadillo, S. Piriz y E.M. Mateus. *Manual de Microbiología Veterinaria* (507-518). Madrid: Mc Graw Hill
- Iañez, E. (1998). *Historia de la Microbiología*. Recuperado de: <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/micro-ianez/index.html-11k>
- Jordan, F.T.W. (1990). *Poultry Diseases* (3th ed.). Philadelphia: W.B.Saunders.
- Jordan, F T.W. Pattison, M. y Faragher, T. (1999). Mycobacterium avium – Avian Tuberculosis. In: *Poultry Diseases* (5th ed.). Philadelphia: W. B. Saunders.
- Kearns, K.S. y Loudis, B. (2003). *Avian Mycobacteriosis. Recent Advances in Avian Infectious Diseases*. NY. Recuperado de: <http://www.ivis.org>.
- Keymer, I.F. (1997). Mycobacterium Infections of Birds. *Journal of Veterinary Records* 140, 292.
- López, J.M. (2002). *La medicina en la historia*. Madrid: La Esfera de los Libros.
- Marco, I., Domingo, M. y Lavin, S. (2000). Mycobacterium Infection in a Captive Rered Capercaillie (Tetrao urugallus). *Avian Diseases*, 44 (1), 227-230.
- Maslow, J. (1997, oct.). *Tuberculosis and other Mycobacteria as Zoonoses. Proceeding American Association of Zoo Veterinarians*. Houston, Texas: Annual conference.
- Neira, R., Rodríguez, G., Silva, A., Arias, L., Guerrero, M.I., León, C.I. (2006). Estudio macro y microscópico de la tuberculosis aviar en un zoológico de la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, 12: 7-21.
- Organization International of Epizooties (2004). Avian Tuberculosis En *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* (5th ed., part 2 section 2.7 chapter 2.7.8). Recuperado el 4 de agosto del 2005, de http://www.oie.int/eng/normes/manual/A_00109.htm
- Ozcan, K., Beytut, E., Aydin, F. y Tuzco, M. (2001). Tuberculosis in Geese (Anser anser). In: *Turkey. Avian Diseases*, 45 (3),755-759-
- Puerta, A.M. (2002). Tuberculosis producida por el *Mycobacterium avium* en animales silvestres. Monografía. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de La Salle.
- Ramis, A., Ferrer, L., Aranaz, A., Liébana, E., Mateus, A., Domínguez, L., Pascual, C., Fernández Garayazabal, J. y Collins, M.D. (1996). Mycobacterium genavense Infection in Canaries. *Avian Diseases* 40 (1), 246-251.
- Sanford, S.E., Rehmtulla, A.J. y Gaylan, K.A.J. (1994). Tuberculosis in Farmed Rheas (Rhea Americana). *Avian Diseases*, 38 (2),193-196.
- Schmith, R.E., Reavill, D.R. y Phalen, D.N. (2003). *Pathology of pets and Aviary Birds*. Department of Large Animals Medicine and Surgery College of Veterinary Medicine, Iowa State Press.

- Shane, S.M., Camus, A., Strain, M.G., Thoen, O.C. y Tully, T.N. (1993). *Tuberculosis in Commercial Emus (Dromaius novahollandiae)*, 37, 1172-1176.
- Silva, A.P., León, C.I., Guerrero, M.I., Neira, R., Arias, L. y Rodríguez, G. (2009). Avian tuberculosis of zoonotic importance at a zoo on the Bogotá Andean Plateau (Sabana), Colombia. *The Canadian Veterinary Journal* 50 (8), 841-845.
- Singbeil, B.A., Bickford, A.A. y Stoltz, J.H. (1993). Isolation of *Mycobacterium avium* from Ringneck Pheasants (*Phasianus colchicus*). *Avian Diseases*, 37, 612-615.
- Tell, L.A., Woods, L., Cromie, R.L. (2001). Micobacteriosis en aves. *Revista Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, 20 (1), 180-203. Recuperado el 4 de agosto del 2005 de: <http://www.oie.int/esp/publicat/RT/2001>.
- Thoen, C.O., Karlson, A.G. y Himes, E.M. (1981). Mycobacterial Infections in Animals. *Journal Infectious Diseases*, 3, 960-972.
- Thoen, C.O. 2000. Tuberculosis. En: *Enfermedades de las Aves*. CAlnek, B Barnes, J., Beard, C., Mc Dougal, L. y Saif Y. Traducida por: Antonio Lemus. Manual Modeno, México.
- Thoen, C.O. (2002). *Mycobacterium avium* infections in animals. In: Identification of *Mycobacterium avium* genotypes with Distinctive Traits by Combination of IS 1245-Based Restriction Fragment Length Polymorphism and Restriction Analysis of hsp65. *Journal of Clinical Microbiology*, 41 (1).
- Thoen, C.O. (2003). Tuberculosis. En *Enfermedades de las Aves* (pp. 167-179). (s.d.)
- Thornton, M.B.A., Cranfield, M.R., Mac Lellan, K.M., Brink, T.L., Strandberg, J.D., Carlin, E.A., Torrelles, J.B., Maslow, J.N., Hasson, B., Heyl, D.M., Sarro, S.J., Chatterjee, D. y Passen, S. (2001). Processing post-mortem specimens with C18 Carboxipropylbetaine and analysis by PCR to develop an antemortem test for *Mycobacterium avium* infections in ducks. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 30 (1), 11-24.
- Vadillo, S., Piriz, S. y Mateus, E.M. (2002). *Manual de Microbiología Veterinaria*. Madrid: Mc Graw Hill.

