

Micobacteriosis en cercetas migratorias capturadas en lagunas del altiplano centro de México

Mycobacteriosis in captured migratory teals in lagoons of Central Mexican Plateau

Alicia E. Arrona-Rivera^a, Félix Sánchez-Godoy^a, Gary García-Espinosa^a

RESUMEN

Durante la inspección post mortem de las aves acuáticas migratorias cazadas durante la actividad cinegética correspondiente a la temporada invernal 2008-2009 en las lagunas del Altiplano centro de México, se detectaron nódulos firmes con contenido caseoso de color amarillo en el hígado de una cerceta ala azul (*Anas discors*) y una cerceta canela (*Anas cyanoptera*). A la histopatología con tinción de hematoxilina y eosina se observó exudado rodeado por células inflamatorias y tejido conectivo fibroso. La tinción de Ziehl-Neelsen evidenció la presencia de bacilos rectos o curvos. Este reporte muestra la presencia de Micobacteriosis en cercetas silvestres migratorias en México y resalta la necesidad de vigilar las enfermedades presentes en aves silvestres y su posible impacto en salud pública.

PALABRAS CLAVE: Micobacteriosis, Cerceta migratoria, Ziehl-Neelsen, Laguna, Altiplano.

ABSTRACT

During *post mortem* inspection of migratory aquatic birds hunted during 2008-2009 winter hunting season in lagoons of central Mexican Plateau, firm nodules of yellow caseous content in the liver of one Blue-winged Teal (*Anas discors*) and one Cinnamon Teal (*Anas cyanoptera*) were detected. Exudate surrounded by inflammatory cells and fibrous connective tissue was observed at histopathology using eosin and hematoxylin stain. Ziehl-Neelsen staining showed the presence of straight and curved bacilli. This study shows the presence of mycobacteriosis in wild migratory teals in Mexico and highlights the need to monitor the diseases present in wild birds and its possible impact in public health.

KEY WORDS: Mycobacteriosis, Migratory teal, Ziehl-Neelsen, Lagoon, Plateau.

Las bacterias ácido-alcohol resistentes están asociadas a una enfermedad bacteriana contagiosa crónica de las aves domésticas, y en quince órdenes de aves silvestres conocida como Micobacteriosis aviar, que puede afectar también a seres humanos inmunocomprometidos⁽¹⁾. La enfermedad se caracteriza por causar emaciación, anorexia, letargia y muerte en un periodo de pocas semanas hasta meses. La micobacteriosis aviar ha sido reportada en

The acid-alcohol-resistant bacteria are associated with chronic contagious bacterial disease in domestic birds and in fifteen different wild bird orders known as avian mycobacteriosis, which can also affect immunosuppressed people⁽¹⁾. The disease is characterized by emaciation, anorexia, lethargy and death in a matter of few weeks to months. Avian mycobacteriosis has been reported in North America, South America, Europe, Russia,

Recibido el 16 de diciembre de 2011. Aceptado el 26 de marzo de 2012.

^a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 3000, UNAM, CU, Coyoacan, 04510 México. DF. gary@unam.mx. Correspondencia al tercer autor.

Norteamérica, Sudamérica, Europa, Rusia, Sureste de Asia y África^(2,3). La mayoría de los reportes de la enfermedad corresponden a las aves silvestres en cautiverio. Las especies del bacilo reportadas en aves pertenecen al complejo *Mycobacterium avium-intracellulare* que comprende al *M. avium* subespecie *avium*, *M. avium* subespecie *paratuberculosis*, *M. avium* subespecie *silvaticum*, y *M. intracellulare*. También se han reportado en aves otras micobacterias como *M. genavense*, *M. fortuitum*, *M. tuberculosis*, *M. gordonae*, *M. nonchromogenicum*, *M. celatum*, y *M. simiae*^(4,5,6). Sin embargo, la enfermedad en aves acuáticas silvestres es esporádica y principalmente asociada con *M. avium*^(7,8) la cual es frecuente cuando las aves son mantenidas en cautiverio^(9,10,11).

La conservación, manejo y sustentabilidad del programa actual de aves acuáticas en México incluye a las lagunas de la región del golfo de México, Pacífico y del Altiplano norte y centro. Debido a que las lagunas del Altiplano dependen de la limitada precipitación pluvial, el hábitat es limitado para las aves acuáticas comparado con las otras regiones. Se ha estimado que hay entre 260,000 a 600,000 aves del orden *Anseriforme* en el Altiplano norte y centro, de los cuales el 93 % son anátidos migratorios que provienen de los Estados Unidos y Canadá durante la época de invierno⁽¹²⁾. La época de cacería durante el invierno corresponde al periodo de noviembre a febrero para algunas de estas especies, y es el periodo donde se lleva a cabo la vigilancia para el virus de influenza aviar e inspección de los cadáveres cazados, por parte de la subdirección de Sanidad de Vida Silvestre de la SEMARNAT.

En el presente reporte se describe el hallazgo de lesiones con bacterias ácido-alcohol resistentes indicativos de micobacteriosis en dos cercetas migratorias colectadas en dos lagunas del Altiplano centro.

Las cercetas migratorias son los anátidos más abundantes y autorizados para cazar en las lagunas del Altiplano centro durante el periodo

Southeast Asia and Africa^(2,3). The majority of the reports correspond to wild birds in captivity. The bacillus species reported in birds belong to the *Mycobacterium avium-intracellulare* complex that includes *M. avium* subspecies *avium*, *M. avium* subspecies *paratuberculosis*, *M. avium* subspecies *silvaticum* and *M. intracellulare*. Also, other mycobacteria has been reported in birds, such as: *M. genavense*, *M. fortuitum*, *M. tuberculosis*, *M. gordonae*, *M. nonchromogenicum*, *M. celatum* and *M. simiae*^(4,5,6). However, in wild aquatic birds the disease is sporadic and is mainly associated with *M. avium*^(7,8), which is frequently observed in captive birds^(9,10,11).

The conservation, management and sustainability of the current programme of aquatic birds in Mexico include the coastal lagoons located along the Gulf of Mexico, Pacific Ocean and central and north Mexican Plateau. Because the lagoons of the Mexican Plateau depend on the limited rainy precipitation, the habitat is limited for the aquatic birds compared to other regions. It has been estimated that there are between 260,000 and 600,000 order *Anseriforme birds* in the north and central Mexican Plateau, of which 93 % are migratory anatids coming from the United States of America and Canada during the winter season⁽¹²⁾. Winter waterfowl hunting season corresponds to the November and February period for some of these species and it is the period in which avian influenza virus surveillance is conducted and inspection of hunted carcasses is performed by the Subdirección de Sanidad de Vida Silvestre of SEMARNAT. The present work describes the findings of lesions produced by acid-alcohol-resistant bacteria which are indicative of mycobacteriosis in two migratory teals collected in two lagoons of Central Mexican Plateau.

The migratory teals are the most abundant anatids and authorized for hunting in the lagoons of Central Mexican Plateau during the November to February period. However, there are also birds belonging to orders *Charadriiforme*, *Gruiforme* and *Pelecaniforme*.

de noviembre a febrero. Sin embargo, también se pueden observar aves del orden *Charadriiforme*, *Gruiforme* y *Pelecaniforme*. Durante la vigilancia del virus de influenza aviar en anátidos migratorios cazados, se realizaron necropsias en forma aleatoria para evaluar el estado corporal. Durante noviembre de 2008 a febrero de 2009 se colectaron 353 cercetas con base a su disponibilidad. Los cadáveres completos se mantuvieron a 4 °C y se enviaron al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la Universidad Nacional Autónoma de México para realizar la necropsia.

El 11 de enero de 2009 un macho adulto de la especie *Anas discors* (Cerceta ala azul) se colectó de la laguna de San Pedro Tultepec en el ejido con el mismo nombre en el Estado de México (19° 14' 01.75" N, 99° 29' 06.43" O). La cerceta tenía un peso de 360 g considerado normal para la especie. A la necropsia se observó emaciación; en el parénquima hepático, y en la serosa del intestino delgado se apreciaron múltiples nódulos de ~0.1 a 0.4 cm de diámetro aproximadamente. Los nódulos eran firmes al tacto con bordes bien delimitados y al corte contenían moderada cantidad de exudado caseoso (Figura 1). El 24 de febrero de 2009 una hembra de la especie *Anas cyanoptera* (Cerceta canela) se colectó de la laguna de Atlangatepec, correspondiente al municipio del mismo nombre en el estado de Tlaxcala (19° 33' 35.31" N, 98° 10' 58.09" O) y a una distancia de ~140 km de la laguna de San Pedro Tultepec. La cerceta tenía un peso de 390 g considerado normal para la especie. En la necropsia, se observó emaciación, y varios nódulos de ~0.1 a 0.3 cm en el parénquima hepático. Los nódulos eran firmes al tacto con bordes bien delimitados y con exudado caseoso en su interior.

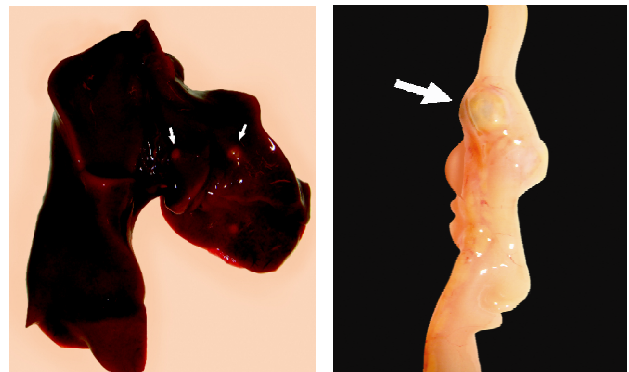
Muestras de hígado e intestino de cada cerceta se fijaron en formalina amortiguada al 10% durante 24 h, embebidas en parafina y teñidas con hematoxilina y eosina (H&E), y Ziehl-Neelsen (ZN)⁽¹³⁾. Microscópicamente los nódulos estaban compuestos por lesiones de

During the avian influenza virus surveillance of hunted migratory anatids, random necropsies were performed to evaluate body condition. During November 2008 to February 2009, 353 teals were collected based on their availability. The complete carcasses were kept at 4 °C and sent to the Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves of the Universidad Nacional Autónoma de México to perform the necropsy.

On January 11, 2009, an adult male Blue-winged Teal (*Anas discors*) was collected from the lagoon of San Pedro Tultepec in the common land with the same name in the Estado de México (19° 14' 01.75" N, 99° 29' 06.43" W). The teal weighed 360 g, considered as normal for this species. At necropsy, emaciation was observed and multiple nodules of approximately ~0.1 to 0.4 in diameter were found in hepatic parenchyma and small intestine serosa. The nodules were firm with well delimited borders and contained moderate quantity of caseous exudate (Figure 1). On February 24, 2009, a female Cinnamon Teal (*Anas cyanoptera*) was collected from the lagoon of Atlangatepec corresponding to the municipality of the same

Figura 1. Hígado e intestino delgado representativos de la cerceta donde se aprecian granulomas (flechas) de bordes bien definidos, con distribución multifocal y que contienen moderada cantidad de exudado caseoso

Figure 1. Liver and small intestine representative of the teal, where granulomas (arrows) with well-defined borders, with multifocal distribution and that contain moderate quantity of caseous exudate are observed



tipo tuberculoide caracterizadas por zonas de necrosis caseosa rodeada y delimitada por agregados moderados de células inflamatorias que se disponen en varias capas, la primera capa compuesta de células gigantes multinucleadas, la segunda capa por macrófagos y células epiteloides, y la tercera capa por linfocitos y escasas células plasmáticas, todo esto encapsulado por moderada cantidad de tejido conectivo fibroso. Con la tinción especial de Ziehl-Neelsen se observó abundante cantidad de bacilos ácido alcohol resistentes, delgados, rectos a curvos, cortos, que midieron entre 1 a 4 μm de largo, no ramificados, dispuestos al centro y a la periferia de las zonas de necrosis caseosa; así mismo se apreciaron escasos bacilos en el interior del citoplasma de las células gigantes multinucleadas (Figura 2).

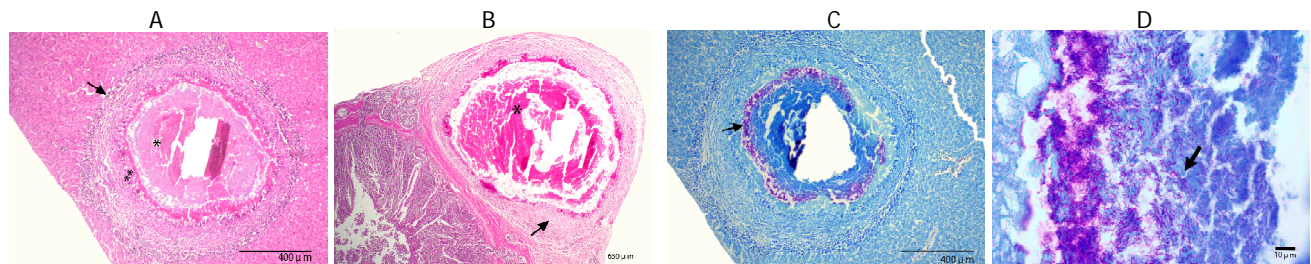
Los hallazgos macroscópicos y microscópicos observados en ambas cercetas se asocian a una infección por micobacterias que concuerda con lo descrito en la literatura^(3,14-18). En las aves de ornato y compañía los cambios morfológicos por micobacterias habitualmente inducen lesiones no tuberculoides, caracterizadas por zonas multifocales de necrosis, y grandes agregados de macrófagos, células gigantes

name in the state of Tlaxcala (19° 33' 35.31" N, 98° 10' 58.09" W) and at a distance of ~140 km from the lagoon of San Pedro Tultepec. At necropsy, emaciation was observed and several nodules of ~0.1 to 0.3 cm in hepatic parenchyma. The nodules were firm with well delimited borders containing caseous exudate.

Liver and intestine samples of each teal were fixed in 10% buffered formalin for 24 h, paraffin-embedded and stained with hematoxylin and eosin (H&E) and Ziehl-Neelsen (ZN)⁽¹³⁾. Microscopically, the nodules were composed of tuberculoid type lesions, characterized by caseous necrosis areas surrounded and delimited by moderate aggregates of inflammatory cells arranged in several layers, the first layer was composed of multinucleated giant cells, the second layer was constituted by macrophages and epithelial cells and the third layer by lymphocytes and scarce plasma cells, all this encapsulated by moderate quantity of fibrous connective tissue. By Ziehl-Neelsen stain, abundant quantity of acid-alcohol-resistant, thin, straight, curved, short bacilli were observed, measuring between 1 to 4 μm long, unbranched, arranged in the center and periphery of caseous necrosis areas; likewise, scarce bacilli were

Figura 2. Fotomicrografías de los granulomas de tipo tuberculoide observados en hígado e intestino delgado representativos de las cercetas

Figure 2. Photomicrograph of tuberculoid type granulomas observed in liver and small intestine representative of teals



A) Histopathological section of liver with tuberculoid type granuloma with caseous necrosis (*), surrounded by multinucleated giant cells and macrophages (**), delimited by fibrous connective tissue and lymphocytes (arrow). HE stain. (B) histopathological section of small intestine that exhibits a tuberculoid type granuloma in the serosa of the organ with caseous necrosis (*), delimited by multinucleated giant cells, macrophages and fibrous connective tissue (arrow). HE stain. (C) histopathological section of the liver, where multibacilli lesions are observed composed by great quantity of acid-alcohol-resistant bacteria at the periphery of the caseous necrosis (arrow). Ziehl-Neelsen stain. (D) histopathological section of intestine with presence of acid-alcohol-resistant bacilli, straight or curved, unbranched and measuring 1 – 4 μm long (arrow). Ziehl-Neelsen stain.

múltinucleadas que infiltran los órganos afectados, y generalmente se asocian a *Mycobacterium genavense*^(19,20).

Este estudio muestra las lesiones y presencia de bacterias ácido alcohol resistente características de micobacteriosis en dos especies diferentes de cercetas migratorias durante su etapa invernal en México. Son necesarios más estudios que incluyan las condiciones ecológicas de las lagunas, localización geográfica de personas, animales domésticos y silvestres, así como la utilización de pruebas de PCR y spoligotiping para determinar el origen de la infección y su posible participación en la salud pública y animal.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la DGVS/SEMARNAT por medio del convenio de colaboración conjunta con la FMVZ/UNAM con el número de convenio 20556-1061-14-IX-07 y el permiso de colecta científica SGPA/DGVS/08516/08.

LITERATURA CITADA

1. Dhama K, Mahendran M, Tiwari R, Singh, SD, Kumar D, Singh S, Sawant PM. Tuberculosis in Birds: Insights into the *Mycobacterium avium* Infections. *Vet Med Inter* 2011; doi:10.4061/2011/712369
2. Friend M, Franson JC. Field manual of wildlife diseases: General Field procedures and diseases of birds. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division. Information and Technology Report 1999-001; 1999.
3. Converse KA. Avian tuberculosis. In: Infectious diseases of wild birds. Thomas NJ, Hunter DB, Atkinson CT editors. Ames, Iowa: Blackwell Publishing; 2007:289-302.
4. Bertelsen MF, Grondahl C, Giese SB. Disseminated *Mycobacterium celatum* infection in a White-tailed Trogon (*Trogon viridis*). *Avian Pathol* 2006;35:316-319.
5. Travis EK, Junge RE, Terrel SP. Infection with *Mycobacterium simiae* complex in four captive Micronesian kingfishers. *J Am Vet Med Assoc* 2007;230:1524-1529.
6. Giovanni Manarolla G, Liandris E, Pisoni G, Sassera D, Grilli G, Gallazzi D, Sironi G, *et al.* Avian mycobacteriosis in companion birds: 20-year survey. *Vet Microbiol* 2009;133:323-327.

observed in the cytoplasm of multinucleated giant cells (Figure 2).

The macroscopic and microscopic findings observed in both teals are associated with an infection by mycobacteria, which coincides with the described in literature^(3,14-18). In ornamental and pet birds, morphologic changes by mycobacteria frequently induce non tuberculoid lesions, characterized by multifocal necrotic areas, large aggregates of macrophages and multinucleated giant cells that infiltrate the affected organs and are generally associated with *Mycobacterium genavense*^(19,20).

This study shows the lesions and presence of acid-alcohol-resistant bacteria, characteristic of mycobacteriosis in two species of migratory teals during their winter refuge in Mexico. More studies that include ecologic conditions of the lagoons; geographical location of people, domestic and wild animals; as well as use of PCR tests and spoligotyping to determine the origin of infection and its possible participation in public and animal health are required.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by DGVS/SEMARNAT by agreement for mutual collaboration with FMVZ/UNAM with agreement number 20556-1061-14-IX-07 and permission for scientific collection SGPA/DGVS/08516/08.

End of english version

7. Soler D, Brieva C, Ribón W. Mycobacteriosis in wild birds: the potential risk of disseminating a little-known infectious disease. *Rev Salud Pública* 2009;11:134-144.
8. Gronesova P, Ficova M, Mizakova A, Kabat P, Trnka A, Betakova T. Prevalence of avian influenza viruses, *Borrelia garinii*, *Mycobacterium avium*, and *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis in waterfowl and terrestrial birds in Slovakia. *Avian Pathol* 2006;37:537-543.
9. Ozcan K, Beytut E, Aydin F, Tuzcu M. Tuberculosis in geese (*Anser anser*) in Turkey. *Avian Dis* 2001;45:755-759.

10. Dvorska L, Matlova L, Ayele WY, Fischer OA, Amemori T, Weston RT, Alvarez J, Beran V, Moravkova M, Pavlik I. Avian tuberculosis in naturally infected captive water birds of the Ardeideae and Threskiornithidae families studied by serotyping IS907 RFLP typing, and virulence for poultry. *Vet Microbiol* 2007;119:366-374.
11. Schrenzel M, Nicolas M, Witte C, Papendick R, Tucker T, Keener L, *et al.* Molecular epidemiology of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* and *Mycobacterium intracellulare* in captive birds. *Vet Microbiol* 2008;126:122-131.
12. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Estrategia para la conservación, manejo y aprovechamiento de las aves acuáticas y su hábitat en México. SEPRIM, Distrito Federal, México; 2008.
13. Prophet E, Mills B, Arrinton J, Sobin L. Métodos histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados de America (AFIP) Registro de Patología de los Estados Unidos de America (ARP) Washington, D.C; 1995.
14. Bougiouklis, P, Brelou G, Fragkiadaki E, Lordanidis P, Vlemmas I, Georgopoulou I. Outbreak of avian mycobacteriosis in a flock of two-year-old domestic pigeons (*Columba livia f. domestica*). *Avian Dis* 2005;49:442-445.
15. Millan J, Negre N, Castellanos E, de Juan L, Mateos A, Parpal L, Aranaz A. Avian mycobacteriosis in free-living raptors in Majorca Island, Spain. *Avian Pathol* 2010;39:1-6.
16. Shitaye, J, Matlova L, Horvathova A, Moravkova M, Dvorska-Bartosova L, Tremi F, *et al.* *Mycobacterium avium* subsp. *avium* distribution studied in naturally infected hen flock and in the environment by culture, serotyping and IS901 RFLP methods. *Vet Microbiol* 2008;127:155-164.
17. Kriz P, Slana I, Kralik P, Babak V, Skoric M, Fictum P, *et al.* Outbreak of *Mycobacterium avium* subsp. *avium* infection in one flock of domestic pigeons. *Avian Dis* 2011;55(3):503-508.
18. Saggese M, Riggs G, Tizard I, Bratton G, Taylor R, Phalen D. Gross and microscopic findings and investigation of the aetiopathogenesis of mycobacteriosis in a captive population of white-winged ducks (*Cairina scutulata*). *Avian Pathol* 2007;36(5):415-422.
19. Schmidt R, Reavill D, Phalen D. Liver. In: Pathology of pet and aviary birds, Schmidt R, Reavill D, Phalen D editors. Ames, Iowa: Iowa State Press; 2003:70-77.
20. Manarolla G, Liandris E, Pisoni G, Sassera D, Grilli G, Gallazzi D, Sironi G, *et al.* Avian mycobacteriosis in companion birds: 20-year survey. *Vet Microbiol* 2009;133:323-327.