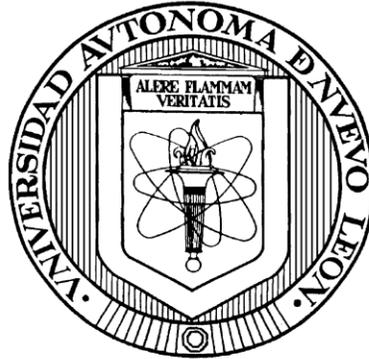


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE AGRONOMÍA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“Diagnóstico de enfermedades infecciosas en loros (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) mexicanos en cautiverio”

POR

ANDRÉS DE JESÚS BURGUEÑO MARTÍNEZ

Como requisito parcial para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIA ANIMAL

Octubre de 2024

“ Diagnóstico de enfermedades infecciosas en loros (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) mexicanos en cautiverio”

Aprobación de tesis por el comité particular de

Andrés de Jesús Burgueño Martínez

COMITÉ DE TESIS



Juan José Zárate Ramos
Presidente



Miguel Ángel Gómez Garza

Miguel Ángel Gómez Garza
Secretario



Armando Trejo Chávez
Vocal

“Diagnóstico de enfermedades infecciosas en Loros (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) mexicanos en cautiverio”

POR

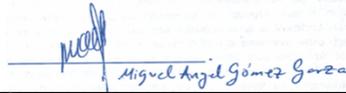


Andrés de Jesús Burgueño Martínez

COMITÉ DE TESIS



Juan José Zárate Ramos- Director



Miguel Ángel Gómez Garza

Miguel Ángel Gómez Garza- Codirector



Ramiro Ávalos Ramírez- Codirector



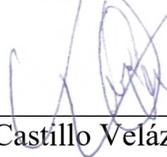
Armando Trejo Chávez- Codirector



Manuel Torres Barajas- Codirector externo



Virgilio Bocanegra García- Codirector externo



Uziel Castillo Velázquez
Subdirector de Posgrado e Investigación

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por seguir apoyando mi trayectoria profesional y mis profundos deseos de explorar el mundo natural.

A mi director de tesis, Juan José Zárate Ramos, quién hizo posible que esta investigación se llevara a cabo, a pesar de las limitantes y los obstáculos en el camino.

A mis asesores, Miguel Ángel Gómez, Ramiro Ávalos, Armando Trejo y Manuel Torres, por brindarme total libertad creativa en el planteamiento, desarrollo y ejecución de esta investigación, así como facilitarme instalaciones, tiempo, recursos humanos y materiales suficientes para completar la pesquisa.

A mi asesor, Virgilio Bocanegra y a todo el equipo del Laboratorio de Interacción Ambiente-Microorganismo, por hacer posible terminar la fase experimental de la investigación, abriéndome las puertas del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional, en Reynosa, Tamaulipas.

A las UMAS y PIMVS participantes, por abrir sus puertas para realizar el estudio y poner a disposición a los loros que la nación encomendó en sus manos, en aras de abonar a su conservación. Una especial mención y agradecimiento a Selva Teenek Ecopark, Bioparque Estrella y UMA El Trébol, por ampliar nuestra red de colaboración más allá de los objetivos planteados al inicio.

A mis amigos, colegas y compañeros de laboratorio, por escucharme una y mil veces hablar sobre los Loros de México, y lo mucho que me apasionan.

DEDICATORIA

Para Andrea Carolina e Israel Alejandro

ÍNDICE

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	VI
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	VII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 LA CONSERVACIÓN DE ESPECIES EN MÉXICO	3
2.2 ESTATUS DE CONSERVACIÓN DE LOS LOROS DE MÉXICO	4
2.3 LOS LOROS EN EL MUNDO Y SU GRAN RELEVANCIA CULTURAL	5
2.4 FACTORES LIMITANTES PARA LA CONSERVACIÓN DE LOS LOROS	6
2.5 ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE IMPORTANCIA EN PSITÁCIDOS	8
2.5.1 <i>Enfermedades virales</i>	8
2.5.2 <i>Enfermedades micóticas y bacterianas</i>	10
2.5.3 <i>ENFERMEDADES PARASITARIAS</i>	12
2.6 ESTUDIOS PREVIOS DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN LOROS MEXICANOS	14
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA	16
4. HIPÓTESIS	17
5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	18
5.1 OBJETIVO GENERAL	18
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
6. MATERIALES Y MÉTODOS	19

6.1	ÁREA Y PERIODO DE ESTUDIO, TIPO DE MUESTREO	19
6.2	MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD	20
6.3	CRITERIOS DE COLECTA DE MUESTRAS	21
6.3.1	<i>AVES SANAS</i>	21
6.3.2	<i>AVES ENFERMAS</i>	21
6.3.3	<i>DECESOS</i>	22
6.4	SECUENCIA DE PROCEDIMIENTOS DE LA COLECTA DE MUESTRAS	22
6.4.1	<i>LLENADO DE BITÁCORA DE EXAMINACIÓN Y MONITOREO</i>	22
6.4.2	<i>MANEJO Y SUJECCIÓN</i>	23
6.4.3	<i>PROTOCOLO DE SEDACIÓN Y REVERSIÓN (OPCIONAL)</i>	23
6.4.4	<i>COLECTA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS</i>	24
6.4.5	<i>COLECTA DE HISOPADOS CLOACALES</i>	24
6.4.6	<i>COLECTA DE HECES</i>	25
6.4.7	<i>COLECTA DE LAVADOS DE BUCHE (PROTOCOLO PARA AVES ENFERMAS)</i>	25
6.4.8	<i>RESGUARDO Y MONITOREO</i>	26
6.5	IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	26
6.6	TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS	28
6.6.1	<i>DIAGNÓSTICO MOLECULAR</i>	28
6.6.2	<i>DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO</i>	30
6.6.3	<i>DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO</i>	31
6.6.4	<i>DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO</i>	33
6.7	NORMATIVIDAD	33
6.7.1	<i>PROTOCOLO DE MANEJO DE ANIMALES ACORDE A LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS Y PROTOCOLOS DE BIOÉTICA Y BIENESTAR ANIMAL</i>	33
6.7.2	<i>PROTOCOLO DE MANEJO DE MATERIAL BIOLÓGICO Y REACTIVOS</i>	35
7.	RESULTADOS	36
7.1	DETECCIÓN MOLECULAR	36
7.1.1	<i>FRECUENCIA MOLECULAR DE ENFERMEDADES VIRALES</i>	36
7.1.2	<i>FRECUENCIA MOLECULAR DE ENFERMEDADES BACTERIANAS Y MICÓTICAS</i>	40

7.2	DETECCIÓN MICROBIOLÓGICA	44
7.2.1	<i>ENFERMEDADES FÚNGICAS Y BACTERIANAS</i>	44
7.3	EXAMINACIÓN PARASITOLÓGICA	47
7.4	HISTOPATOLOGÍA	48
7.4.1	<i>Enfermedades virales</i>	48
7.4.2	<i>ENFERMEDADES FÚNGICAS Y BACTERIANAS</i>	51
8.	DISCUSIÓN	54
8.1	CONTRASTE DE FRECUENCIAS Y REGIONALIZACIÓN	54
8.2	NUEVOS HALLAZGOS EN ESPECIES DE PSITÁCIDOS MEXICANOS	57
8.3	ALCANCES Y LIMITACIONES	57
9.	CONCLUSIÓN	59
10.	BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS ELECTRÓNICAS	60

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. FOTOGRAFÍAS DE LA PLAZA PRINCIPAL DE CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO, DURANTE LA FESTIVIDAD DEL “XANTOLO” O DÍA DE LOS MUERTOS. LA ESCULTURA (IZQUIERDA) REPRESENTA UN LORO DE CABEZA AMARILLA (AMAZONA ORATRIX) NATIVO DE LA ZONA. EL MURAL (DERECHA) ILUSTR A UN LORO DEL GÉNERO AMAZONA AL LADO DE UNA PERSONA ANCIANA Y UNA CATRINA. _____	6
FIGURA 2. UN EJEMPLAR DE LORO DE FRENTE BLANCA (AMAZONA ALBIFRONS) POSADO SOBRE UNA RAMA EN UN SITIO RECIENTEMENTE DEFORESTADO EN YUCATÁN, MÉXICO. _____	7
FIGURA 3. MAPA DE LA REPÚBLICA MEXICANA CON LOS SITIOS DE COLECTA DEL ESTUDIO SEÑALADOS. _____	19
FIGURA 4. TÉCNICA DE SUJECIÓN ADECUADA PARA UN AVE PSITÁCIDA APLICADA EN UN EJEMPLAR DE PSITTACARA HOLOCHLORUS. SELVA TEENEK ECOPARK, CIUDAD VALLES, SAN LUIS POTOSÍ, MÉXICO. _____	23
FIGURA 5. FIGURA QUE SINTETIZA EL PROCESO DE DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO PARA LA DETECCIÓN DE CANDIDA SPP. A A PARTIR DE IMPRONTAS DE CONTENIDO DE BUCHE. _____	31
FIGURA 6. EJEMPLO ILUSTRATIVO DEL EXAMEN COPROPARASTOCÓPICO CON REPETICIONES 3X3 A PARTIR DE UNA MUESTRA FECAL COLECTADA EN CAMPO, PROCESADA CON TÉCNICA DE FLOTACIÓN. ADAPTADO DE: BURGUEÑO-MARTÍNEZ ET AL. (2022). _____	32
FIGURA 7. PRODUCTOS AMPLIFICADOS PARA HERPESVIRUS TIPO 1 DE LOS PSITÁCIDOS. EN LA IMAGEN SE PUEDE APRECIAR EN EL CARRIL 1 EL MARCADOR DE PESO MOLECULAR (MPM), CARRIL 2 CONTROL NEGATIVO, CARRIL 3 CONTROL POSITIVO, CARRILES 4-10 MUESTRAS. SE OBSERVAN BANDAS ASOCIADAS A PRODUCTOS DE AMPLIFICACIÓN (310 Y 394 PB) EN LOS CARRILES 4 Y 9. _____	36
FIGURA 8. GRÁFICA DE FRECUENCIA DE HERPESVIRUS 1 POR ESPECIE, ENFATIZANDO EL TEJIDO EN QUE FUE DETECTADO EL VIRUS. _____	38
FIGURA 9. PRODUCTOS AMPLIFICADOS PARA CHLAMYDOPHILA SPP. EN LA IMAGEN SE PUEDE APRECIAR EN EL CARRIL 1 EL MARCADOR DE PESO MOLECULAR (MPM), CARRIL 2 CONTROL NEGATIVO, CARRIL 3 CONTROL POSITIVO, CARRILES 4-11 MUESTRAS ANALIZADAS. SE OBSERVAN BANDAS ASOCIADAS A PRODUCTOS DE AMPLIFICACIÓN (1094 PB) EN LOS CARRILES 7 Y 9. _____	40

FIGURA 10. GRÁFICA DE FRECUENCIA DE CHLAMYDOPHILA SPP. POR ESPECIE, ENFATIZANDO EL TEJIDO EN QUE FUE DETECTADA LA BACTERIA. _____	42
FIGURA 11. NECROPSIA DE EJEMPLAR DE ARA MILITARIS REMITIDO PARA SU EVALUACIÓN POST-MORTEM. _____	44
FIGURA 12. AMAZONA AUTUMNALIS. HEMBRA. REMITIDO POR UN PARTICULAR CON DISNEA, ANOREXIA CRÓNICA Y DIARREA. SE ENCONTRÓ EVIDENCIA COMPATIBLE CON UN CUADRO INFECCIOSO MIXTO CON PRESENCIA DE CHLAMYDOPHILA PSITTACI, PSEUDOMONAS SPP., Y CANDIDA SPP. _____	46
FIGURA 13. COLONIAS DE LEVADURAS COMPATIBLES MORFOLÓGICAMENTE CON CANDIDA SPP. AGAR PDA. _____	46
FIGURA 14. BLASTOCONIDIAS DE CANDIDA SPP. IMPRONTA DE HISOPADO DE BUCHE. TINCIÓN DE GRAM. 100X. _____	46
FIGURA 15. FORMAS DE DISPERSIÓN PARASITARIAS COMPATIBLES CON A) HUEVOS DE NEMATODO DEL GÉNERO ASCARIDIA (40X) Y B) HUEVOS DE CESTODOS DEL ORDEN CYCLOPHYLLIDEA (100X). AMAZONA AUTUMNALIS. _____	47
FIGURA 16. AMAZONA FARINOSA. REMITIDO POR UN PARTICULAR CON DISNEA SEVERA Y CAQUEXIA CRÓNICA. SE ENCONTRÓ EVIDENCIA HISTOPATOLÓGICA COMPATIBLE CON LA ENFERMEDAD DE PACHECO. _____	49
FIGURA 17. NECROSIS HEPÁTICA COAGULATIVA CON INFILTRADO LINFOPLASMOCITARIO. AMAZONA FARINOSA. H&E. 10X. _____	50
FIGURA 18. CUERPO DE INCLUSIÓN INTRANUCLEAR BASOFÍLICO SIN CARIOMEGALIA EN HEPATOCITO, LESIÓN COMPATIBLE CON HERPESVIRUS TIPO 1 DE LOS PSITÁCIDOS (ENFERMEDAD DE PACHECO). AMAZONA FARINOSA. H&E. 100X. _____	50
FIGURA 19. NECROSIS COAGULATIVA MULTIFOCAL. HÍGADO. AMAZONA AUTUMNALIS. H&E. 40X. _____	52
FIGURA 20. VESÍCULA PARASITÓFORA INTRACITOPLASMÁTICA DE TONALIDAD PÁLIDA LIGERAMENTE BASOFÍLICA. HÍGADO. AMAZONA AUTUMNALIS. H&E. 100X. _____	52
FIGURA 21. INCLUSIONES INTRACITOPLASMÁTICAS COCOIDES COLOR MAGENTA. SUGESTIVAS DE CLAMIDIOSIS. HÍGADO. AMAZONA AUTUMNALIS. TINCIÓN DE GIMÉNEZ. 40X. _____	53

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. PARÁSITOS GASTROENTÉRICOS COMUNES EN LA FAMILIA PSITTACIDAE, LAS TÉCNICAS PARA DIAGNOSTICARLOS Y TRATAMIENTOS EFICACES PARA CADA UNO. ADAPTADO DE: SAMOUR (2010); MILLER & FOWLER (2015); DONELEY (2016); SILVA (2018). _____	13
TABLA 2. RESUMEN DE ALOJAMIENTOS Y LOS EJEMPLARES AVIARES QUE ALBERGAN. _____	20
TABLA 3. UNIDADES DE MANEJO DE VIDA SILVESTRE (UMA) Y PREDIOS E INSTALACIONES QUE MANEJEN VIDA SILVESTRE EN FORMA CONFINADA (PIMVS) SUJETAS A MUESTREO EN EL ESTUDIO, SU MUNICIPIO Y SU CÓDIGO PARA LA CLAVE DE IDENTIFICACIÓN. _____	27
TABLA 4. ESPECIES DE PSITÁCIDOS MEXICANOS SUJETAS A MUESTREO Y SU CÓDIGO PARA LA CLAVE DE IDENTIFICACIÓN. _____	27
TABLA 5. TEJIDO O REGIÓN ANATÓMICA DE LA CUAL SE COLECTÓ LA MUESTRA, EL TIPO DE COLECTA REALIZADO Y SU CÓDIGO PARA LA CLAVE DE IDENTIFICACIÓN. _____	28
TABLA 6. PROTOCOLOS DE EXTRACCIÓN DE DNA, SECUNCIAS DE INICIADORES Y TAMAÑO DE AMPLICONES ESPERADOS PARA CADA REACCIÓN DE PCR PUNTO FINAL. _____	29
TABLA 7. GRADOS DE INFECCIÓN PARASITARIA SEGÚN EL NÚMERO DE ESTADÍOS PARASITARIOS DETECTADOS EN LA PREPARACIÓN (ZÁRATE-RAMOS, 2016). _____	33
TABLA 8. FRECUENCIA GENERAL DE HERPESVIRUS TIPO 1 DE LOS PSITÁCIDOS POR ESPECIE. _____	37
TABLA 9. FRECUENCIA RELATIVA DE HERPESVIRUS TIPO 1 DE LOS PSITÁCIDOS DESGLOSADA POR TEJIDO DEL CUÁL SE COLECTÓ MUESTRA Y POR ESPECIE. _____	38
TABLA 10. FRECUENCIA RELATIVA DE HERPESVIRUS TIPO 1 DE LOS PSITÁCIDOS POR REGIÓN DE ORIGEN. _____	39
TABLA 11. FRECUENCIA GENERAL DE CHLAMYDOPHILA SPP. POR ESPECIE. _____	41
TABLA 12. FRECUENCIA RELATIVA DE CHLAMYDOPHILA SPP. DESGLOSADA POR TEJIDO DEL CUÁL SE COLECTÓ MUESTRA Y POR ESPECIE. _____	41
TABLA 13. FRECUENCIA RELATIVA DE CHLAMYDOPHILA SPP. POR REGIÓN DE ORIGEN. _____	42
TABLA 14. FRECUENCIA DE CO-INFECCIONES DE HERPESVIRUS 1 Y CHLAMYDOPHILA SPP. POR ESPECIE. _____	43

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

- Art. Artículo de la ley
- CBG Centro de Biotecnología Genómica
- CITES Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestres
- DNA Ácido desoxirribunucleico, por sus siglas en inglés: “Deoxyribonucleic acid”.
- DOF Diario Oficial de la Federación
- EN En peligro de extinción. Categoría de la escala de peligro de extinción de la IUCN. Por sus siglas en inglés “Endangered”.
- IPN Instituto Politécnico Nacional
- IUCN Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, por sus siglas en inglés: “International Union for Conservation of Nature”.
- LC Preocupación menor. Categoría de la escala de peligro de extinción de la IUCN. Por sus siglas en inglés “Least concern”.
- mL Mililitro
- NOM Norma Oficial Mexicana

- PCR Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés: “Polimerase Chain Reaction”
- PIMVS Predios Intensivos que Manejan Vida Silvestre
- PROFEPA Procuraduría Federal de Protección al Ambiente
- RNA Ácido ribonucleico, por sus siglas en inglés: “Ribonucleic acid”
- RPBI Residuos Peligrosos Biológico-Infeciosos
- SEMARNAT Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
- spp.* Especie
- UMA Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre
- UNAM Universidad Nacional Autónoma de México
- UANL Universidad Autónoma de Nuevo León
-

RESUMEN

Los loros (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) es una familia de aves *Psittaciformes* que se encuentra gravemente amenazada por causas antropogénicas como: destrucción de hábitats, tráfico de especies, competición con especies exóticas invasoras y brotes de enfermedades infecciosas. Tasas muy elevadas de mortalidad han sido registradas en bandadas de loros traficados. Numerosos decomisos son efectuados cada año por las autoridades ambientales en México, y las aves que logran sobrevivir son resguardadas en cautiverios avalados por la Secretaría de Medio Ambiente (SEMARNAT). Escasos estudios han monitoreado las enfermedades infecciosas más importantes de los psitácidos albergados en cautiverio en el país. Por lo tanto, este estudio exploratorio usa técnicas diagnósticas moleculares (PCR), microbiológicas, coproparasitoscópicas e histopatológicas para buscar evidencia de la presencia de agentes virales (Herpesvirus 1, Poliomavirus), bacterianos (*Chlamydophila psittaci*), fúngicos (*Candida albicans*), y formas de dispersión parasitarias. Se colectaron muestras de 65 aves en cautiverios en los estados de Chiapas, Quintana Roo, Nuevo León y San Luis Potosí. Se encontraron frecuencias de 20% para el caso de Herpesvirus 1 y 20% para *Chlamydophila spp.* No se encontró evidencia de Poliomavirus. *Candida spp.* se describió solamente en un deceso de *Ara militaris*. Parásitos gastroentéricos como nematodos, cestodos y protozoarios móviles compatibles con *Giardia spp.* se encontraron sólo en el 7.5% de los casos. La región sur-sureste de México presentó mayor frecuencia de los patógenos. La frecuencia de Herpesvirus 1 es más alta que la reportada por estudios previos, mientras que la de *Chlamydophila spp.* y los parásitos presentaron una tendencia similar a lo esperado.

Palabras clave: enfermedades en loros, enfermedades infecciosas psitácidos, virus en loros, parásitos en loros, loros de México

ABSTRACT

Parrots (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) are a family of birds that belong to the order *Psittaciformes* which are threatened due to anthropogenic causes, such as: habitat destruction, trafficking, competition with invasive alien species and outbreaks of introduced infectious diseases. High mortality rates have been registered recently in traded flocks. Every year the environmental authority in Mexico performs numerous confiscations and the surviving birds are sent to safe captivities backed by the Mexican environmental department (SEMARNAT). Few studies have monitored the most important infectious diseases in captive parrots in the country. Therefore, this exploratory research uses molecular diagnosis techniques, microbiological techniques, stool examinations and histopathological examinations to look for evidence of viruses (Psittacid herpesvirus, Avian polyoma virus), bacteria (*Chlamydophila psittaci*), yeasts (*Candida albicans*), and parasites that affect these species. Samples of 65 birds were collected in captivities in the states of Chiapas, Quintana Roo, Nuevo León, and San Luis Potosí. The frequencies of Herpesvirus 1 and *Chlamydophila spp.* were 20% and 20% respectively. Evidence of Polioma virus was not found. *Candida spp.* was found only in one post-mortem examination of *Ara militaris*. Gastroenteric parasites such as nematodes, cestodes and protozoa compatible with *Giardia spp.* were found only in 7.5% of the cases. The south-southeastern region of Mexico presented the highest frequency for the pathogens. The frequency of Herpesvirus 1 was higher than in previous studies, meanwhile for *Chlamydophila spp.* and parasites the tendency was similar.

Key words: parrot diseases, psittacine infectious diseases, parrot viruses, parrot parasites, Mexican parrots

1. INTRODUCCIÓN

Los loros (*Psittacidae*: Illigaer, 1811) son una familia de aves del orden *Psittaciformes* que incluye aproximadamente 326 especies vivientes (Collar, 1997) y México tiene entre 22-24 de ellas distribuyéndose naturalmente en su territorio.

Se caracterizan por tener un pico fuerte y curvo, apuntando hacia abajo, además de un plumaje de colores brillantes, teniendo el color verde como común denominador en la mayoría de las especies mexicanas. El dimorfismo sexual en estas aves es nulo o casi nulo, con algunas excepciones puntuales como el *Amazona albifrons* (Gómez-Garza et al., 2017).

Su sobresaliente inteligencia las lleva a desarrollar aprendizaje, memoria e incluso la habilidad para mimetizar el lenguaje humano, lo que sumado a su belleza estética los ha vuelto de los animales más buscados como compañía desde antaño, lo que a su vez les fue ganando un importante lugar en la cultura de muchos países, como México.

Para vislumbrar esta “Cultura de Loros” basta con observar detenidamente la carta número 24 del tradicional juego de la lotería mexicana: “El cotorro”, que retrata un ejemplar adulto de Loro de cabeza amarilla (*Amazona oratrix magna*). También piezas de alfarería de varias culturas mesoamericanas o los mismos códices Mexicanos ilustran la estrecha relación que los loros han tenido con los mexicanos desde sus orígenes (Gómez-Garza, 2014).

Desafortunadamente, la alta estima que la cultura tiene para con los loros tiene un lado oscuro. Buscando satisfacer la voraz demanda de estas aves como mascota, miles de ellos son capturados en el medio silvestre y traficados en condiciones deplorables, puesto que la legislación

vigente prohíbe reproducir, criar y comercializar reguladamente psitácidos mexicanos. Tasas de mortalidad tan elevadas como 75% se han registrado en loros traficados (Cantú-Guzmán, Sánchez-Saldaña, Grosselet, et al., 2007). Esta prohibición también fomentó la importación masiva de aves psitácidas exóticas, provenientes especialmente de Sudamérica, mismas que tras escapar del cautiverio o ser liberadas, compiten ahora por los nichos ecológicos con nuestros loros nativos. Además, su ingreso aumenta el riesgo de entrada de nuevos patógenos virulentos y letales a los que las poblaciones silvestres no estaban previamente expuestas (Gómez-Garza et al., 2017).

En un contexto de poblaciones con tendencia a la baja y un mercado negro empoderado que suplente la demanda completa de loros mexicanos como mascota, sin importarles el bienestar de las aves que trafica, es necesario emprender esfuerzos para garantizar que estos números no se reduzcan más. Una estrategia para esto es el monitoreo de enfermedades en los loros que tras ser rescatados del tráfico son albergados en cautiverios autorizados por la SEMARNAT.

Por lo tanto, este estudio propone diagnosticar una serie de enfermedades infecciosas de alta importancia en psitácidos por medio de técnicas moleculares, microbiológicas, coproparasitoscópicas e histopatológicas. Con esto se puedan evitar brotes de enfermedad y decesos de valiosos individuos pertenecientes a especies que hoy se encuentran amenazadas. Además, prospectivamente estas acciones diagnósticas contribuyen a la sanidad de las poblaciones de loros en cautiverio, lo que podrá permitir eventualmente que estas aves o su prole puedan ser reintroducidas a la vida silvestre con total seguridad para ellos y sus con-específicos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 LA CONSERVACIÓN DE ESPECIES EN MÉXICO

Desde el año 2000 entró en vigor la Ley General de Vida Silvestre, el marco legislativo que regula la flora y la fauna que habita de forma natural o introducida en el territorio nacional. En dicha ley se acuñó por primera vez el término “UMA”, un acrónimo que originalmente significaba “Unidad de Manejo Ambiental” y que tras una serie de reformas se definiría como “Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre”. De igual manera, en reformas posteriores se añadió el término “PIMVS”, acrónimo de “Predios Intensivos que Manejan Vida Silvestre”.

Las UMA y los PIMVS son dos entidades legales a las que el Estado mexicano les permite manejar flora y fauna silvestre. Las UMA son predios de extensión considerable, con espacios abiertos y orientados a la conservación de las especies nativas de México, ya sea de manera extensiva (sin encierros) o de manera intensiva (en cautiverios). Los PIMVS por su parte suelen ser predios de menor extensión dedicados a la reproducción de especies exóticas de vida silvestre con fines de aprovechamiento comercial.

En el último censo de UMAs se contabilizaron 1722 de estas entidades, que en conjunto representan el 19% del territorio nacional (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2018). En ellas, las autoridades ambientales como la Procuraduría Federal de Protección Ambiental (PROFEPA) encuentran aliadas para resguardar ejemplares de fauna silvestre que son decomisados de las redes de tráfico ilegal que operan en el país.

Uno de los grupos de animales que son más frecuentemente decomisados por la PROFEPA y remitidos a las UMAs y PIMVS son los psitácidos (*Psittacidae*), una familia de aves que tiene una arraigada y estrecha relación con la sociedad mexicana y que genera una enorme demanda comercial.

2.2 ESTATUS DE CONSERVACIÓN DE LOS LOROS DE MÉXICO

Según la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2023), las especies de la familia *Psittacidae* que se distribuyen en México tienen diferentes clasificaciones de su Estado de conservación, llenando desde la *Preocupación menor* (LC), por ejemplo *Ara macao*, hasta *En Peligro de extinción* (EN) como en el caso de *Amazona oratrix* o *Rhynchopsitta terrisi*. Sin embargo, esta escala está en función de los números de individuos a nivel mundial, por lo que es lógico que las especies endémicas de México sean categorizadas en un mayor nivel de riesgo de extinción que las que se distribuyen también a lo largo de Centroamérica y Sudamérica.

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2023) enlista a ocho especies de psitácidos mexicanos en su Apéndice I, la máxima categoría restrictiva (prohibición) para el comercio de ejemplares: *Amazona auropalliata*, *Amazona finschi*, *Amazona oratrix*, *Amazona viridigenalis*, *Ara macao*, *Ara militaris*, *Rhynchopsitta pachyrhyncha*, *Rhynchopsitta terrisi*. El resto de las especies están enlistados en el Apéndice II, categoría que incluye especies que podrían estar en peligro de extinción si no se regula estrictamente su comercio internacional.

Para tener un panorama más puntual de la condición de las poblaciones de loros en México se debe recurrir a su clasificación en la NOM-059-SEMARNAT-2010, la cual enlista las especies de seres vivos sujetas a protección en el territorio nacional, así como el grado de protección que se les otorga. Por ejemplo, ambas especies de guacamayas, *Ara macao* y *Ara militaris*, en dicha norma se categorizan como *En peligro de extinción* (P), lo que contrasta con la escala de la IUCN y denota como a pesar de que los números de estas especies están relativamente estables a nivel mundial, en el territorio nacional van en vías de la extinción. De hecho, la Norma Oficial enlista a casi todas las especies de loros de México, con excepción del *Amazona autumnalis*.

De igual manera, la Ley General de Vida Silvestre (2021) protege a todas las especies de vertebrados terrestres, sean enlistados en la NOM-059-SEMARNAT-2010 o no, lo que incluye a todas las especies de psitácidos que se distribuyan de manera natural en México. También prohíbe en su Artículo 60-Bis 2 el aprovechamiento extractivo con fines lucrativos de estas aves.

2.3 LOS LOROS EN EL MUNDO Y SU GRAN RELEVANCIA CULTURAL

En las palabras de Weston & Memon (2009), la historia del comercio de loros (*Psittaciformes*) se remonta a miles de años atrás, pues la humanidad siempre ha deseado tener un pedazo de la naturaleza que sea bello. Como ejemplo están ilustres personajes como Alejandro Magno o Theodore Roosevelt, que además de ostentar un gran poder tuvieron en común su gusto por las aves psitácidas como mascota.

Actualmente, los loros tienen un nicho ganado en la cultura popular y los hogares de muchas naciones, remarcadamente en América Latina. Para ejemplo, la American Veterinary Medical Association en 2008 reportó a través del *US Pet Ownership and Demographics Sourcebook* que 3.9% de los hogares estadounidenses tienen aves como mascota, equivalentes a 11.2 millones de animales. De estos, 75% pertenecen al orden *Psittaciformes*. En contraste, países como Costa Rica donde estas aves se distribuyen naturalmente, hasta el 24% de los hogares tienen uno o más loros como mascota (Drews, 2002), forjando lo que se define como “Cultura de Loros”.

Tan relevante es el papel de los psitácidos en esta región del mundo que autores acredores al Premio Nobel de Literatura, como Gabriel García Márquez, han incluido en su obra retratos que evocan a estas aves. Véase el siguiente fragmento de *Cien Años de Soledad* (García-Márquez, 1967):

"La calle de los Turcos era otra vez la de antes, la de los tiempos en que los árabes de pantuflas y argollas en las orejas que recorrían el mundo **cambiando guacamayas** por chucherías hallaron en Macondo un buen rincón para descansar [...]".

Múltiples ejemplos de la estrecha relación entre loros y seres humanos se pueden encontrar en la historia y la cultura de los pueblos que coalescen con sus sitios de distribución (*Figura 1*). Lamentablemente, este lugar en la cultura ha tenido un alto precio para las poblaciones silvestres, como se describe a continuación.



Figura 1. Fotografías de la plaza principal de Ciudad Valles, San Luis Potosí, México, durante la festividad del “Xantolo” o Día de los muertos. La escultura (izquierda) representa un Loro de cabeza amarilla (Amazona oratrix) nativo de la zona. El mural (derecha) ilustra un loro del género Amazona al lado de una persona anciana y una catrina.

2.4 FACTORES LIMITANTES PARA LA CONSERVACIÓN DE LOS LOROS

La principal amenaza para los loros del mundo es el tráfico al que se someten para comercializarlos, tanto por la vía legal como por el mercado negro. (Tella & Hiraldo, 2014) describen que el atractivo plumaje y la habilidad para mimetizar el lenguaje humano los vuelven muy solicitados como mascota. Esto escala al punto de que 259 especies (74%) de las poco más de 350 que existen en el orden *Psittaciformes* han sido sujetas al comercio internacional, involucrando a millones de aves en las décadas recientes. Por este motivo, 30% de las especies de loros están actualmente en Peligro de extinción (Donald et al., 2013). Las prohibiciones a nivel internacional han reducido en cierta medida el efecto del tráfico, sin embargo el saqueo de nidos y captura de aves adultas sigue vigente en muchos países (Pires, 2012), enfocándose ahora en comercializar en un mercado local.

Varios países de América Latina han sido estudiados recientemente en materia del mercado local de loros, incluidos Costa Rica, Perú, Nicaragua y México (González, 2003; Engebretson, 2006; Cantú-Guzmán et al., 2007; Gómez-Garza et al., 2017). Cantú-Guzmán y colaboradores (2007) estiman que en México entre 65 000-78 500 de individuos son traficados anualmente y que el 75% de ellos mueren antes de alcanzar al comprador final, que en el 86-96% de los casos se trata de un usuario del mercado local.

Además de la presión del comercio, los loros de México y del mundo se enfrentan a otros desafíos de origen antropogénico, tales como: destrucción de sus hábitats (*Figura 2*); el crecimiento de la mancha urbana; y la competencia con especies exóticas invasoras, como el perico monje argentino (*Myopsitta monachus*). La introducción de estas especies exóticas es preocupante, pues portan patógenos a los que los psitácidos de México no están expuestos frecuentemente y para los que no tienen inmunidad de parvada (Gómez-Garza et al., 2017). Esta última condición se ve atenuada por la escasa investigación que se ha llevado a cabo para detectar estos patógenos y la nula capacidad diagnóstica que se tiene para prevenir un brote. El impacto que las enfermedades introducidas tienen en los loros mexicanos es desconocido en gran medida, tanto a nivel de individuo como a nivel poblacional.



Figura 2. Un ejemplar de Loro de frente blanca (Amazona albifrons) posado sobre una rama en un sitio recientemente deforestado en Yucatán, México.

2.5 ENFERMEDADES INFECCIOSAS DE IMPORTANCIA EN PSITÁCIDOS

El hacinamiento es común en la cadena de suministro que provee de ejemplares psitácidos al mercado, tanto de forma legal como ilegal. Esta condición ha hecho que las enfermedades infecciosas cobren importancia entre los criadores y comercializadores de loros, ya que los brotes pueden significar altas tasas de mortalidad y pérdidas económicas.

Con una óptica conservacionista, estas enfermedades representan un riesgo potencial para las poblaciones de loros que se encuentran en peligro de extinción. Las poblaciones en cautividad podrían correr un riesgo mayor por el hacinamiento, el ingreso de nuevos individuos de origen e historial desconocido y la falta de medidas de bioseguridad estandarizadas. Un brote puede mermar considerablemente esfuerzos de reproducción, crianza, rehabilitación y liberación de individuos valiosos para una especie amenazada.

2.5.1 ENFERMEDADES VIRALES

La enfermedad de Pacheco y el Polioma aviar son dos enfermedades virales con altas tasas de morbilidad y mortalidad que se han reportado en psitácidos americanos confinados en criaderos, centros de comercialización y decomisos. La enfermedad de Pacheco es especialmente preocupante porque se ha reportado en reservorios aviares enlistados como Especies exóticas invasoras, por ejemplo, el perico monje argentino (*Myopsitta monachus*) o el loro de la patagonia (*Cyanoliseus patagonus*) (Turrall-Ramírez et al., 2017).

La medida en que las poblaciones de estos reservorios exóticos pueden afectar a las psitácidas nativas y susceptibles es aún desconocida, pero se puede hipotetizar que es un factor de riesgo alarmante (Gómez-Garza et al., 2017). A continuación se describen a detalle ambas enfermedades.

2.5.1.1 Enfermedad de Pacheco

El Herpesvirus tipo 1 de los Psitácidos es el causante de esta enfermedad en los loros del continente americano, especialmente en los géneros *Amazona* y *Ara*. Se trata de un virus con genoma DNA bicatenario (Miller & Fowler, 2015).

No hay un tropismo viral definido, pero el hígado es el órgano que se ve más afectado en las revisiones histopatológicas. Riñón, bazo, páncreas e intestino también pueden fungir como sitios de replicación.

Las lesiones incluyen necrosis, congestión y hemorragia, con cuerpos de inclusión intranucleares en las células diana, especialmente hepatocitos (Miller & Fowler, 2015). La lesión macroscópica más evidente es el hígado con bordes redondeados con zonas de necrosis coagulativa multifocal de color pálido. Las lesiones microscópicas incluyen cuerpos de inclusión basofílicos (sin halo de inhibición) y eosinofílicos (con halo de inhibición) al interior del núcleo. La formación de sincitios (aglomeración celular con pérdida del patrón morfológico normal) es frecuente como una adaptación que permite la transmisión facilitada de viriones a las células adyacentes (Sánchez-Godoy, 2023).

El hacinamiento promueve el contagio, que se da a través de heces, aerosoles y contacto directo. Se atribuye la entrada del patógeno a los nuevos ingresos en un grupo de aves (Gómez-Garza et al., 2017).

La signología es súbita, siendo la muerte repentina de varios animales uno de los primeros hallazgos que se dan en los brotes de esta enfermedad. Las heces se vuelven verdes denotando la presencia de biliverdina, un metabolito indicador de insuficiencia hepática (Cambrico Biotech Laboratory, 2015). La anorexia y depresión crónica son también signos inespecíficos (Gómez-Garza et al., 2017).

El diagnóstico definitivo de esta enfermedad se realiza comparando los hallazgos histopatológicos con la detección molecular por medio de PCR a partir de heces o sangre (Miller & Fowler, 2015).

2.5.1.2 Polioma aviar

El virus del Polioma aviar, perteneciente a la familia *Polyomaviridae*, causa la enfermedad. Es un virus no envuelto con genoma DNA bicatenario. El tropismo del virus no es específico, pero se replica en células de órganos parenquimatosos, como hígado, riñón y bazo.

Las lesiones macroscópicas incluyen anomalías en plumas, hidropericardio, cardiomegalia, hepato-esplenomegalia, congestión renal y hemorragias en cavidades, tejido subcutáneo y seroso. Además, se observan zonas de necrosis coagulativa multifocal de color blanco (Miller & Fowler, 2015; Sánchez-Godoy, 2023). Microscópicamente, los cuerpos de inclusión son ligeramente eosinofílicos y vitreos (en espejo). Una distinción remarcable de las inclusiones intranucleares generadas por Poliovirus es que causan cardiomegalia a diferencia de otras inclusiones de virus DNA, como Herpesvirus (Sánchez-Godoy, 2023).

El contagio se da por contacto directo, aerosoles, ingestión de material contaminado, fomites e incluso por vía vertical (Miller & Fowler, 2015). La signología es similar a otras enfermedades infecciosas, por ejemplo: Distrofia en plumas, como con Circovirus aviar; diarrea y anorexia crónica, como en Enfermedad de Pacheco, y estasis de Buce, como en Candidiasis (Miller & Fowler, 2015). Probablemente, las hemorragias generalizadas son el signo que permitiría diferenciar a esta enfermedad de otras (Gómez-Garza et al., 2017). Sin embargo, el diagnóstico molecular por técnica de PCR es necesario para confirmarlo.

2.5.2 ENFERMEDADES MICÓTICAS Y BACTERIANAS

Desde el enfoque de la conservación, las enfermedades bacterianas y micóticas pueden considerarse de menor impacto por tener tasas de morbilidad y mortalidad bajas en contraste con los virus, especialmente cuando el sistema inmunológico del ave se encuentra en óptimo estado y no enfrenta co-infecciones. Sin embargo, algunas de estas enfermedades son zoonóticas y pueden considerarse un peligro para la salud pública. Los psitácidos pueden excretar en sus heces, bacterias como *Salmonella spp.*, parásitos, y/o levaduras. También son portadoras (y a veces reservorios) de *Chlamydophila psittaci*, una bacteria intracelular que genera cuadros de enfermedad respiratoria y reproductiva en el ser humano.

Este proyecto le da enfoque a dos patógenos zoonóticos de los psitácidos: *Candida albicans* y *Chlamydophila psittaci*.

2.5.2.1 Candidiasis

Candida spp. es la levadura responsable de esta enfermedad y suele ocasionar signos cuando hay individuos inmunocomprometidos, como polluelos inmaduros o adultos sometidos a estrés (Miller & Fowler, 2015). La mucosa de la cavidad oral, la faringe, el esófago y el buche es donde se localizan las lesiones principales y se caracteriza por una estasis de buche, debido a la inflamación que se produce. No debe ser confundida con la inflamación a nivel de la pechuga generada por Bornavirus.

El diagnóstico es sencillo y consiste en observar las estructuras de la levadura por medio de microscopia de una muestra de contenido del buche. La tinción de Gram facilita la observación de las estructuras circulares u ovaladas características de esta especie de levadura, tiñiéndolas de color azul o morado, considerándose así como Gram positivos (Guevara-Robles et al., 2010). En infecciones avanzadas, las levaduras se pueden observar en heces. De igual forma, el análisis molecular usando PCR es una opción confirmatoria viable.

2.5.2.2 Psitacosis

Esta enfermedad es causada por la bacteria intracelular obligada *Chlamydophila psittaci*. La replicación ocurre en células epiteliales, por lo que los signos clínicos son amplios y muchas veces inespecíficos, por ejemplo: secreción ocular, inflamación de tracto respiratorio superior, letargia, diarrea y heces verdosas (por insuficiencia hepática aguda). En loros las infecciones suelen cursar sin desarrollo de signos, lo que los hace portadores importantes de esta enfermedad zoonótica (Miller & Fowler, 2015).

Chlamydophila spp. infecta al organismo como un cuerpo elemental, el cual ingresa a la célula epitelial por medio de endocitosis mediada por receptor. Una vez dentro, los cuerpos elementales se transforman en cuerpos reticulados, los cuales son metabólicamente activos pero no

infecciosos y dependen de la célula para obtener energía por medio de su síntesis de ATP. Por fisión binaria, los cuerpos reticulados se multiplican y esto estimula la respuesta inmunitaria, montando una inflamación local alrededor de las células infectadas. Entre 48-72 horas después de su ingreso a la célula, los cuerpos reticulados se condensan y reorganizan en cuerpos elementales nuevamente, mismos que lisan la célula y terminan por iniciar un nuevo proceso infeccioso (Center of Disease Control, 2022).

El diagnóstico es desafiante pues requiere la integración de PCR para detección molecular a partir de hisopados cloacales o traqueales, aumento en el conteo leucocitario y visualización histopatológica de cuerpos de inclusión (especialmente en hepatocitos), mismos que pueden ser confundidos con otros agentes patógenos (Herpesvirus 1, Poliomavirus) (Miller & Fowler, 2015). Las inclusiones clamidiales se observan como células manchadas ligeramente eosinofílicas con la tinción Hematoxilina y Eosina (H&E), localizadas en el citoplasma de células diana, especialmente hepatocitos y células del bazo. Una tinción más específica para observar las inclusiones es necesaria, como la tinción de Giménez, que tiñe de magenta las acumulaciones bacterianas cocoides sobre un fondo verde azulado. La micrografía electrónica es la técnica confirmatoria (Sánchez-Godoy, 2023).

2.5.3 ENFERMEDADES PARASITARIAS

2.5.3.1 Parásitos gastroentéricos

Los signos clínicos más observados en endoparasitosis por Doneley (2016) son: pérdida de masa corporal, dificultad para alimentarse o simplemente dejan de hacerlo, además de un estado súbito de shock.

A continuación se presenta un resumen de los endoparásitos que afectan a las especies de la familia *Psittacidae*.

Tabla 1. Parásitos gastroentéricos comunes en la familia Psittacidae, las técnicas para diagnosticarlos y tratamientos eficaces para cada uno. Adaptado de: Samour (2010); Miller & Fowler (2015); Doneley (2016); Silva (2018).

Taxonomía	Descripción	Técnica diagnóstica	Tratamiento
Ascaridida (Nematoda)	Gusanos cilindroides, blancos, de 20-150 mm	Coproparasitoscópico por flotación	Oxfendazol, Fenbendazol
Capillaria (Nematoda)	Gusanos delgados. Huevos similares a los del género <i>Trichuris</i> .	Coproparasitoscópico directo o por flotación	Oxfendazol, Fenbendazol
Cestoda (Platyhelminthes)	Gusanos planos segmentados y blancos.	Observación directa de proglótidos. Coproparasitoscópico por flotación.	Praziquantel
<i>Isospora spp.</i> , <i>Eimeria spp.</i> (Protozoa)	Protozoarios no flagelados	Coproparasitoscópico directo	Toltrazuril
Giardia (Protozoa)	Protozoarios flagelados móviles	Coproparasitoscópico directo	Ronidazol, Metronidazol
<i>Cryptosporidium</i> (Protozoa)	Protozoarios no flagelados	Coproparasitoscópico por flotación	No se ha descrito un tratamiento eficaz
<i>Trichomonas gallinae</i> (Protozoa)	Protozoarios con cuatro flagelos	Signos clínicos compatibles. Rara en psitácidos.	Metronidazol, Dimetrodazol
<i>Sarcocystis spp.</i> (Protozoa)	Protozoario no flagelado	Observación de quistes en masas musculares (túbulos de Miescher)	No se ha descrito un tratamiento eficaz. Se puede implementar Toltrazuril de forma experimental.

2.5.3.2 Ectoparásitos

Miller y Fowler (2015) describen las miasis que ocasionan algunas moscas del género *Philornis* (miasis subcutáneas cavitatorias) y de la familia *Calliphoridae*. Carpintero y colaboradores (2011) encontraron que el loro sudamericano *Thectocercus acuticaudatus* es un hospedador primario de la chinche *Ornithocoris toledo*.

2.6 ESTUDIOS PREVIOS DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN LOROS MEXICANOS

Hasta el 2005, ningún estudio de monitoreo de enfermedades en loros silvestres se había realizado en México, y sólo había dos reportes previos de enfermedad en individuos en cautiverio, pertenecientes al género *Rhynchopsitta* y *Amazona*. Hasta la fecha, escasos estudios se han publicado al respecto.

Stone y colaboradores (2005) colectaron suero de cuatro especies de loros mexicanos (*Amazona oratrix*, *Amazona autumnalis*, *Amazona viridigenalis* y *Rhynchopsitta pachyrhyncha*), buscando anticuerpos contra Herpesvirus de los psitácidos, Influenza aviar y Parainfluenza. Además, buscaron endo y ectoparásitos. No encontraron evidencia serológica de los agentes virales ni formas de dispersión en los coproparasitoscópicos. Sin embargo, pudieron identificar algunos ectoparásitos, como: garrapatas de la familia *Ixodidae*; ácaros de la especie *Ornithonyssus sylviarum*; pulgas de la especie *Psyttopsylla mexicana*; piojos de las especies *Paragoniocoltes mexicanus*, *Heteromenopon sp.*, y *Psittacobrosus sp.*; y chinches del género *Ornithocoris*.

Más recientemente el estudio de Gómez-Garza y colaboradores (2017) describe la detección molecular de varios agentes virales y bacterianos de importancia en loros, tales como: Circovirus aviar, Herpesvirus 1 de los psitácidos, Bornavirus, Poliomasvirus, *Chlamydophila psittaci* y *Mycoplasma spp* usando técnica de PCR Tiempo real. Adicionalmente, se detectaron formas de dispersión parasitaria compatibles con *Ascaridia spp.*, y *Eimeria spp.* Piojos masticadores del suborden *Mallophaga* también fueron identificados. El muestreo involucró a doscientas aves pertenecientes a 15 especies de psitácidos nativos de México.

También en 2017, Turrall-Ramírez y colaboradores (2017) describieron un brote de Herpesvirus tipo 1 en aves psitácidas en cautiverio, tanto en especies nativas de México como exóticas, encontrando una frecuencia general de 18% a partir de DNA extraído de células colectadas en lavados cloacales.

Finalmente, Meza-Madrid et al. (2019) recopilan los hallazgos histopatológicos en aves psitácidas remitidas al Departamento de Aves de la FMVZ-UNAM en el periodo de 2006-2017. Aquí, se describen 252 necropsias que derivaron en 412 reportes de procesos patológicos, de los cuales el 25% tuvieron un origen bacteriano, 6% un origen parasitario, 2% un origen micótico y 2% un origen viral.

Ante tan escasos estudios que aborden el tema de las enfermedades infecciosas en psitácidos, es de vital importancia emprender esfuerzos de vigilancia epidemiológica especializada con técnicas de detección sensibles y específicas para los principales patógenos de los loros, haciendo énfasis y priorizando aquellos que pueden tener altas tasas de mortalidad, lo que implica un daño considerable a la biodiversidad y a especies en peligro de extinción, así como aquellos que por su potencial zoonótico pueden representar un problema de salud pública. Después, se deben aplicar estas técnicas a poblaciones de aves estratégicas, como aquellas que por su condición de cautividad están en contacto cercano con los seres humanos.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Los loros (*Psittacidae*) de México son aves sumamente amenazadas por la presión antropogénica que su alto valor cultural impone sobre ellos y sus poblaciones silvestres sufren cada año reducciones considerables. La investigación de los factores que ponen en riesgo a estas aves es crucial para salvaguardar poblaciones y ejemplares valiosos, pero actualmente se han realizado muy pocos estudios en el tema, siendo particularmente escasos los que competen a enfermedades infecciosas. Por lo tanto, este estudio plantea realizar una vigilancia epidemiológica en poblaciones de psitácidos en cautiverio, integrando técnicas diagnósticas moleculares, microbiológicas, parasitológicas e histopatológicas para cuatro enfermedades infecciosas de alto impacto que pudieran mermar poblaciones o afectar la salud pública.

4. HIPÓTESIS

Se encontrará una frecuencia de Herpesvirus 1, Poliomasvirus, y *Chlamydophila psittaci*, similar a los reportes previos, entre el 4-10%.

Considerando la biología y etología de los psitácidos, se espera una frecuencia mínima de formas de dispersión parasitarias en los estudios coproparasitoscópicos de rutina.

Finalmente, considerando a *Candida albicans* como un comensal habitual de la microbiota del aparato digestivo, se espera encontrar una frecuencia baja, con indicios de su proliferación sólo en aves enfermas o en las revisiones *post mortem*.

5. OBJETIVOS DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

5.1 OBJETIVO GENERAL

Detectar Herpesvirus tipo 1, Polioma aviar, *Chlamydophila psittaci*, *Candida albicans* y formas de dispersión parasitarias en aves psitácidas albergadas en Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) y Predios e Instalaciones que Manejen Vida Silvestre en forma confinada (PIMVS) de México.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Detectar agentes infecciosos virales (**Herpesvirus 1, Poliomavirus**) y bacterianos (*Chlamydophila psittaci*) en aves con o sin signología clínica a partir de hisopados cloacales, muestras sanguíneas, y tejidos, ante y/o post-mortem.
- b) Detectar formas de dispersión parasitarias en aves con o sin signología clínica a partir de heces frescas ante y/o post-mortem.
- c) Detectar estructuras compatibles con levaduras del género *Candida* de aves con signos de enfermedad a partir de lavados de buche ante y/o post-mortem.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 ÁREA Y PERIODO DE ESTUDIO, TIPO DE MUESTREO

El estudio se llevó a cabo en cinco Unidades de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre (UMA) y Predios Intensivos de Manejo de Vida Silvestre (PIMVS) de México: Bioparque Estrella en Montemorelos, Nuevo León; UMA El Trébol en Villacorzo, Chiapas; UMA Los Toros en Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Selva Teenek Ecopark en Ciudad Valles, San Luis Potosí; y Akumal Monkey Sanctuary en Akumal, Quintana Roo (*Figura 3*). Con fines de regionalización, se consideran tres regiones de México en el estudio: Noreste (Nuevo León); Centro-Occidente (San Luis Potosí); y Sur-sureste (Chiapas y Quintana Roo) (Cámara de Diputados- Centro de Estudios de las Finanzas Públicas., 2007).

El periodo efectivo del muestreo fue de noviembre de 2022 a noviembre de 2023. Se realizó un muestreo no aleatorio de tipo intencional en todas las aves psitácidas cuya especie se distribuye de forma natural en el territorio mexicano (*Tabla 2*).

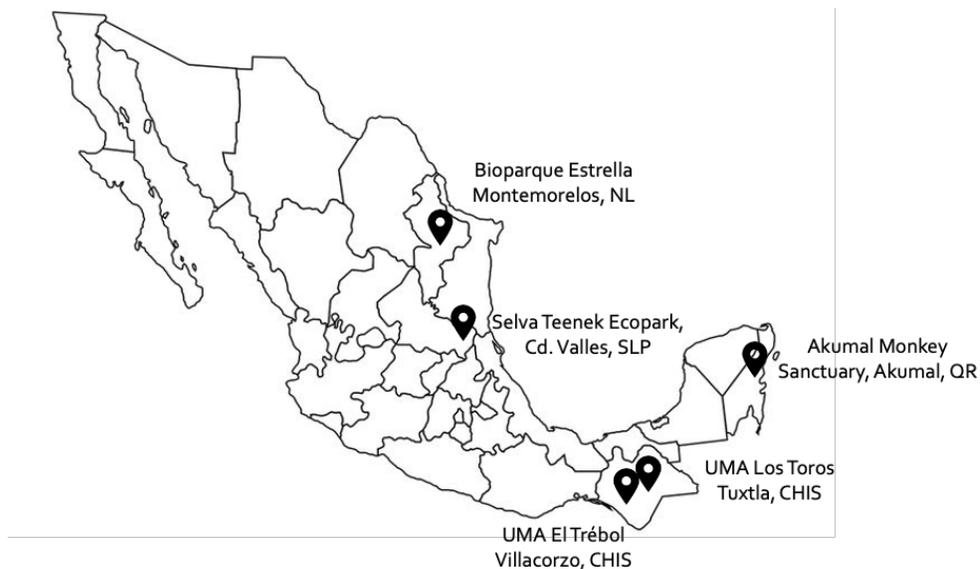


Figura 3. Mapa de la República Mexicana con los sitios de colecta del estudio señalados.

Tabla 2. Resumen de alojamientos y los ejemplares aviares que albergan.

Predio	Localización	No. De ejemplares	Especie	Sexaje (machos:hembras: sin sexar)
UMA El Trébol	Villacorzo, Chiapas	8	<i>Amazona albifrons</i>	(4:4:0)
		1	<i>Amazona autumnalis</i>	(0:1:0)
		3	<i>Amazona auropalliata</i>	(1:2:0)
		2	<i>Eupsittula nana</i>	(0:2:0)
UMA Los Toros	Tuxtla Gutiérrez, Chiapas	4	<i>Ara macao</i>	(0:0:4)
		4	<i>Amazona auropalliata</i>	(0:0:4)
Akumal Monkey Sanctuary	Akumal, Quintana Roo	6	<i>Ara macao</i>	(0:0:6)
		2	<i>Ara militaris</i>	(0:0:2)
		14	<i>Amazona albifrons</i>	(0:0:14)
		1	<i>Amazona autumnalis</i>	(0:0:4)
		1	<i>Amazona xantholora</i>	(0:0:1)
Bioparque Estrella	Montemorelos, Nuevo León	11	<i>Ara militaris</i>	(0:0:11)
		2	<i>Ara macao</i>	(0:0:2)
		2	<i>Amazona viridigenalis</i>	(0:0:2)
Selva Teenek Ecopark	Ciudad Valles, San Luis Potosí	1	<i>Amazona autumnalis</i>	(0:0:1)
		1	<i>Pionus senilis</i>	(0:0:1)
		1	<i>Psittacara holochlorus</i>	(0:0:1)
Total		65		

6.2 MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD

La colecta de todas las muestras se realizó utilizando prendas apropiadas y equipo para mitigar el riesgo de transmisión de enfermedades o problemas de sanidad. Todo el personal involucrado en el muestreo vistió con overol de trabajo y botas de hule. El colector de muestras portó siempre un par de guantes de látex que se cambiaron en el manejo de cada ejemplar, lentes de plástico para proteger los ojos y cubrebocas. Al procesar y examinar muestras en el sitio de colecta, el examinador utilizó en todo momento overol o bata, guantes de látex, googles y cubrebocas.

Además, se desinfectó el equipo de procesamiento de muestras (microscopio, mesas, asa coprológica, superficies) con cloruro de benzalconio (150 mg/mL) y se desecharon los materiales desechables, heces y materiales contaminados con secreciones en Bolsas de polietileno color rojo para materiales de RPBI. Las jeringas utilizadas para coleccionar las muestras sanguíneas se desecharon en un recipiente de plástico rígido color rojo RPBI.

Finalmente, y como medida preventiva que responde a un reciente brote de influenza aviar de 2022 en México, todo el personal que participó en el muestreo fue desinfectado por medio de aspersión utilizando sales cuaternarias de amonio o cualquiera de sus derivados, teniendo énfasis en desinfectar el calzado y la vestimenta. De igual forma, ningún involucrado podía asistir al muestreo si presentaba síntomas respiratorios, pirexia o cualquier síntoma sugestivo de una infección. Se debían cumplir 5 días previos al muestreo con un adecuado estado de salud y sin haber visitado otra colección aviar, correspondientes al límite superior del periodo de incubación del virus de la influenza más 1 día.

6.3 CRITERIOS DE COLECTA DE MUESTRAS

6.3.1 AVES SANAS

Para las aves clínicamente sanas, se coleccionaron las siguientes muestras: (1) sangre completa en dos viales, con anticoagulante para conservar sangre completa y sin anticoagulante para obtener suero; (2) hisopado cloacal; y (3) muestra de heces separada en dos viales, uno con solución salina para realizar examen coproparasitológico con técnica directa y otro con formol al 10% para realizar examen coproparasitológico con técnica de flotación.

6.3.2 AVES ENFERMAS

Para las aves que mostraron signos clínicos compatibles con enfermedad (específicos o no) se agregó a las muestras antes descritas una impronta de buche obtenida por medio de lavado con solución salina.

6.3.3 DECESOS

Si un ave del universo de muestreo pereció durante el estudio se ofreció un servicio de diagnóstico histopatológico, con el fin de describir lesiones posiblemente compatibles con el foco del estudio (Herpesvirus, Polioma, Clamidiosis, Candidiasis). Si se encontraron lesiones no compatibles con el foco de estudio, se reportaron los diagnósticos presuntivos y se mencionan los hallazgos, pero no formaron parte del cálculo de prevalencia ni de las estadísticas.

6.4 SECUENCIA DE PROCEDIMIENTOS DE LA COLECTA DE MUESTRAS

Al visitar cada sitio de muestreo, se siguió metódicamente la siguiente secuencia de procedimientos:

6.4.1 LLENADO DE BITÁCORA DE EXAMINACIÓN Y MONITOREO

La bitácora de examinación y monitoreo tuvo por objeto recopilar datos relevantes de los ejemplares aviáres, de su condición clínica y de las condiciones en que eran mantenidos en cautiverio. Dichos datos fueron analizados estadísticamente en asociación con los resultados de la detección de agentes patógenos para vislumbrar su posible efecto.

Los datos que recopiló la bitácora fueron: Especie, edad, sexo, marcaje, masa corporal, condición corporal, historial clínico, plan alimenticio, comportamiento (a distancia), postura y simetría, condiciones del alojamiento, antecedentes y respuesta al manejo y los elementos propios del examen clínico orientado a problemas (ECOP) aplicado a las aves psitácidas.

Igualmente, se incluye una sección para el monitoreo de signos vitales en caso de que el protocolo de sedación y/o anestésico fueran requeridos. Se ilustra a detalle cada sección de la bitácora en el *Anexo 1*.

6.4.2 MANEJO Y SUJECIÓN

La captura del ave se realizó utilizando una red apropiada con malla plástica de textura suave. La sujeción es específica para aves psitácidas, enfocada en inmovilizar la cabeza y el pico para evitar lesiones al manejador, los asistentes y al loro. Se sujetó desde la región dorsal, dejando libre la región de la pechuga para permitir la libre respiración del ejemplar e inmovilizando alas y patas. El manejador se auxilió preferentemente de una toalla de tela. De 2 a 3 asistentes adicionales al manejador fueron necesarios para el manejo. A continuación se anexa la *Figura 4* para ilustrar la técnica.



Figura 4. Técnica de sujeción adecuada para un ave psitácida aplicada en un ejemplar de Psittacara holochlorus. Selva Teenek Ecopark, Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

6.4.3 PROTOCOLO DE SEDACIÓN Y REVERSIÓN (OPCIONAL)

En ocasiones las aves psitácidas pueden demostrar resistencia al manejo y niveles de estrés considerables, especialmente aquellos individuos provenientes de vida silvestre y con escaso o nulo antecedente de manejo. Por tanto, se contempló como parte del manejo la utilización de un protocolo de sedación con base en benzodiacepinas y su revertidor específico por vía intranasal. Las dosis se describen a continuación (Carpenter & Marion, 2018):

Diazepam (sedativo) 2-4.5 mg/kg

Flumazenil (revertidor) 0.05 mg/kg

Este protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética y Bienestar animal de la FMVZ UANL en el dictamen 039/2023 (Modificación: 071/2022) con folio 040/2023.

6.4.4 COLECTA DE MUESTRAS SANGUÍNEAS

Las muestras sanguíneas se colectaron de las venas radiales de las alas como primera opción, la vena yugular como opción alterna o con el corte de la uña de una de las falanges, cauterizando con una herramienta rotativa adaptada (Dremel ®) como última vía de obtención.

La cantidad de sangre que se puede coleccionar de cada ave está completamente en función de su tamaño, yendo de 100-2500 µL. La literatura establece que entre el 6-12% de la masa corporal (en gramos) de un ave corresponde a su volumen de sangre en mL. De este volumen, 10% (es decir, 1% de la masa del ave) puede ser coleccionada de forma segura (Campbell, 2015). Por ejemplo, en un loro del género *Amazona* cuya masa ronda los 250 g se pueden coleccionar máximo 2.5 mL (2500 µL).

Para el estudio la sangre se almacenó fraccionada en dos partes iguales. La primera mitad se colocó en un vial con Primestore ® Molecular transport medium (MTM), un medio especial que retrasa la degradación del material genético por factores ambientales, como la temperatura. La segunda mitad se introdujo en un microtubo sin anticoagulante para posteriormente coleccionar suero (BD microtainer ®).

6.4.5 COLECTA DE HISOPADOS CLOACALES

La colecta de hisopados se realizó frotando un hisopo estéril contra la pared de la cloaca de cada ave, humedeciendo previamente con solución salina 0.9%. Después de la impronta serán almacenados y preservados en un vial de plástico con medio MTM.

6.4.6 COLECTA DE HECES

El material fecal se tomó directamente de la cloaca, utilizando un asa coprológica de plástico flexible o un hisopo humedecido con solución salina al 0.9%, procurando que la muestra, además de fresca, esté libre de tierra, plumas y otros contaminantes del medio. Si el ave defeca durante el manejo, se presinde de lo antes descrito para tomar la deposición fresca como muestra.

Se procuró tomar entre 1-5 g de heces por ave, dependiendo del tamaño de esta. Posteriormente, se dividió la muestra en dos partes iguales, almacenando una mitad en un tubo plástico con tapa hermética sin medio de conservación, para el examen coproparasitoscópico directo que se realizará en el sitio después del manejo. La segunda mitad se almacenó también en un tubo plástico con formalina al 10%, para el examen coproparasitoscópico por flotación, en relación 1 gramo de heces: 9 mL de formalina. Esta mitad se evaluó en el Laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UANL.

Posterior a la colecta, todas las muestras fueron identificadas (siguiente sección) y refrigeradas a 4° C hasta su procesamiento en el laboratorio correspondiente, con excepción de las destinadas al examen coproparasitoscópico directo que se realizó *in situ*.

6.4.7 COLECTA DE LAVADOS DE BUCHE (PROTOCOLO PARA AVES ENFERMAS)

La colecta de una muestra líquida que impregne el contenido del buche es necesaria para detectar microorganismos que puedan interferir con el correcto proceso digestivo de un ave, por ejemplo las levaduras del género *Candida*.

El lavado se hace por medio de una sonda de alimentación metálica de un calibre adecuado para cada tamaño de ave, conectada a una jeringa con solución salina fisiológica al 0.9%. La cantidad de solución está en función del tamaño del ave, en un rango de 0.5 mL a 25 mL. Se introduce la sonda hasta el buche, corroborando su correcta localización con palpación. Posteriormente, se descarga la solución salina llenando el buche y se vuelve a aspirar para coleccionar

el contenido homogenizado con la solución. Dicha impronta se procesa para detectar estructuras compatibles con tinción de Gram, cultivo y PCR.

6.4.8 RESGUARDO Y MONITOREO

Finalmente se colocó al ave en un confinamiento apartada del resto, que puede ser otra área del recinto con acceso controlado o cajas transportadoras con orificios para ventilación. Durante esta etapa final del procedimiento se observó al ave, monitoreando su respiración y comportamiento por al menos 20 minutos o hasta que el médico veterinario a cargo lo consideró pertinente. Las aves fueron devueltas a sus recintos una vez que se da el visto bueno y no se detecten anomalías aparentes post-manejo.

6.5 IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron identificadas con una **Clave de identificación** (*Figura 5*), cuyos detalles de nomenclatura se describen a continuación:

Ejemplo de Clave de identificación: TBL.AAP.001.CL

Desglose:

“TBL” es el código alfanumérico de tres dígitos asignado a cada UMA o PIMVS de forma individual y única para identificar el predio del que viene la muestra. El resumen de estos códigos se muestra en la *Tabla 3*;

“AAP” determina la especie de la que proviene la muestra. Los códigos de cada especie se resumen en la *Tabla 4*. En este caso, AAP es para *Amazona auropalliata*.

“001” indica el marcaje del ejemplar muestreado, usualmente un anillo.

“CL” identifica el tejido o región anatómica de la cual se colectó la muestra, en este caso, Cloaca. El desglose de claves para cada región anatómica o tejido se ilustra en la *Tabla 5*;

Tabla 3. Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA) y Predios e Instalaciones que Manejen Vida Silvestre en forma confinada (PIMVS) sujetas a muestreo en el estudio, su municipio y su código para la Clave de identificación.

Código	Predio	Ubicación
TBL	UMA El Trébol	Villacorzo, Chiapas
LTS	UMA Los Toros	Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
STK	Selva Teenek Ecopark	Ciudad Valles, San Luis Potosí
AMS	Akumal Monkey Sanctuary	Akumal, Quintana Roo
BIO	Bioparque Estrella	Montemorelos, Nuevo León

Tabla 4. Especies de psitácidos mexicanos sujetas a muestreo y su código para la Clave de identificación.

Código	Especie
AMC	<i>Ara macao</i>
AMT	<i>Ara militaris</i>
PRH	<i>Pyrilia haematotis</i>
PIO	<i>Pionus senilis</i>
AAP	<i>Amazona auropalliata</i>
AAB	<i>Amazona albifrons</i>
AXL	<i>Amazona xantholora</i>
AAN	<i>Amazona autumnalis</i>
AFG	<i>Amazona farinosa</i>
AOR	<i>Amazona oratrix</i>
AVS	<i>Amazona viridigenalis</i>
AFS	<i>Amazona finschi</i>
BRJ	<i>Brotogeris jugularis</i>
BRL	<i>Bolborhynchus lineola</i>
FRC	<i>Forpus cyanopigiuis</i>
EUC	<i>Eupsittula canicularis</i>
EUN	<i>Eupsittula nana</i>
PSH	<i>Psittacara holochlorus</i>
PST	<i>Psittacara strenuus</i>

Tabla 5. Tejido o región anatómica de la cual se colectó la muestra, el tipo de colecta realizado y su código para la Clave de identificación.

Código	Tejido del cuál se colecta la muestra	Tipo de colecta
BU	Buche	Lavado
SN	Sangre	Muestra sanguínea
HC	Heces	Hisopado
CL	Cloaca	Hisopado

6.6 TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

6.6.1 DIAGNÓSTICO MOLECULAR

6.6.1.1 Protocolos de extracción de DNA y primers para PCR

A partir de las muestras sanguíneas e hisopados cloacales colectados, se realizó técnica de PCR Punto final para detectar secuencias de nucleótidos compatibles con los agentes patógenos del estudio. Esto se llevó a cabo en el Laboratorio de Virología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FMVZ-UANL) y el Laboratorio de Interacción Ambiente-Microorganismo del Centro de Biotecnología Genómica del Instituto Politécnico Nacional (CBG-IPN). La *Tabla 6* desglosa los protocolos para extracción de DNA en los cuales se siguieron las especificaciones del fabricante, y los iniciadores seleccionados para cada agente etiológico.

Tabla 6. Protocolos de extracción de DNA, secuencias de iniciadores y tamaño de amplicones esperados para cada reacción de PCR Punto final.

Agente etiológico	Protocolo de extracción de DNA	Iniciador (5'-3') para detección	Amplicon esperado (pb)
Herpesvirus tipo 1 de los Psitácidos	EZ-10 Spin column blood genomic DNA mini BioBasic®	Clone 11 F y R	310 y 394
		(Tomaszewski <i>et al.</i> 2000)	
Polioma virus	EZ-10 Spin column blood genomic DNA mini BioBasic®	APV-Ot-2,105-F & APV-Ot-2,846-R	831
		(Altan <i>et al.</i> 2016)	
<i>Candida albicans</i>	Protocolo de Fenol-Cloroformo	ITS 4 & ITS 5	550
		(Angelov <i>et al.</i> 2015)	
<i>Chlamydomphila psittaci</i>	EZ-10 Spin column blood genomic DNA mini BioBasic®	ompA Chla F&R	1094
		(Sykes <i>et al.</i> 2001)	

6.6.1.2 Estandarización de PCR y electroforesis

Para el PCR de Herpesvirus 1 de los psitácidos se usaron los iniciadores descritos por Tomaszewski *et al.* (2001). Se realizaron algunas modificaciones con fines de estandarización en la concentración de los reactivos de la reacción de PCR y sus volúmenes, para formar una reacción final de 15 µL como se describe a continuación: Buffer 1x (3 µL); MgCl₂ 2.5 mM (1.5 µL); dNTPs 0.4 mM (0.6 µL); Primer Clone 11 F 0.2 µM (0.6 µL); Primer Clone 11 R 0.2 µM (0.6 µL); 0.75 U Taq polimerasa (0.15 µL); 7.55 µL de H₂O estéril; y 1.0 µL de DNA. De igual manera, las temperaturas de reacción sufrieron ligeras modificaciones con respecto al protocolo original, resultando en el siguiente diseño: 94° C por 5 min; 40 ciclos de 94° C por 30 s, 55° C por 45 s (ambos iniciadores), 72° C por 45 s; 72° C por 5 min. Los productos amplificados se separaron por electroforesis a 75 V por 55 min en un gel de agarosa al 2.5%.

Para el PCR de Polioma aviar se usaron los iniciadores descritos por Altan y colaboradores (2016). Se realizaron algunas modificaciones con fines de estandarización en la concentración de los reactivos de la reacción de PCR y sus volúmenes, para formar una reacción final de 15 µL como se describe a continuación: Buffer 1x (3 µL); MgCl₂ 2.5 mM (1.5 µL); dNTPs 0.4 mM (0.6 µL); Primer APV-Ot-2-105F 0.2 µM (0.6 µL); Primer APV-Ot-2-846R (0.6 µL); 0.75 U Taq polimerasa (0.15 µL); 6.55 µL de H₂O estéril; y 2 µL de DNA. De igual manera, las temperaturas de reacción

sufrieron ligeras modificaciones con respecto al protocolo original, resultando en el siguiente diseño: 95° C por 5 min; 35 ciclos de 95° C por 60 s, 50° C por 60 s, 72° C por 60 s; y 72° C por 5 min. Los productos amplificados se separaron por electroforesis a 75 V por 70 min en un gel de agarosa al 1.5%.

Para el PCR de *Chlamydomophila spp.* se usaron los iniciadores descritos por Sykes et al. (1997). Se realizaron algunas modificaciones con fines de estandarización en la concentración de los reactivos de la reacción de PCR y sus volúmenes, para formar una reacción final de 15 µL como se describe a continuación: Buffer 1x (3 µL); MgCl₂ 2.5 mM (1.8 µL); dNTPs 0.4 mM (0.6 µL); Primer ompA ChlaF 0.2 µM (0.3 µL); Primer ompA ChlaR (0.3 µL); 0.75 U Taq polimerasa (0.2 µL); 7.8 µL de H₂O estéril; y 1 µL de DNA. De igual manera, las temperaturas de reacción se modificaron con respecto al protocolo original, resultando en el siguiente diseño: 95° C por 5 min; 35 ciclos de 90° C por 90 s, 56° C por 90 s, 72° C por 90 s; y 72° C por 5 min. Los productos amplificados se separaron por electroforesis a 80 V por 70 min en un gel de agarosa al 1.5%.

6.6.2 DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El objetivo del diagnóstico microbiológico fue detectar levaduras compatibles con el género *Candida spp* en aves enfermas y en revisiones *post mortem*.

Tras obtener una impronta del contenido del buche, se hace un frotis con una gota sobre un portaobjetos, se deja secar y se fija con un mechero de etanol. Finalmente se tiñe utilizando los colorantes de la tinción de Gram y se observa al microscopio fotónico para buscar estructuras compatibles con *Candida spp*, que se tiñen Gram positivas.

Utilizando el contenido colectado del buche, se hace cultivo microbiológico en agar papa dextrosa (PDA). Las colonias tienen una morfología redonda, de color blanquecino amarillento y con bordes bien definidos (Guevara-Robles et al., 2010).

Si el frotis y/o el cultivo resultaron compatibles con *Candida spp.*, se confirmó el diagnóstico por medio de PCR Punto final utilizando el protocolo descrito por Angelov et al. (2015).

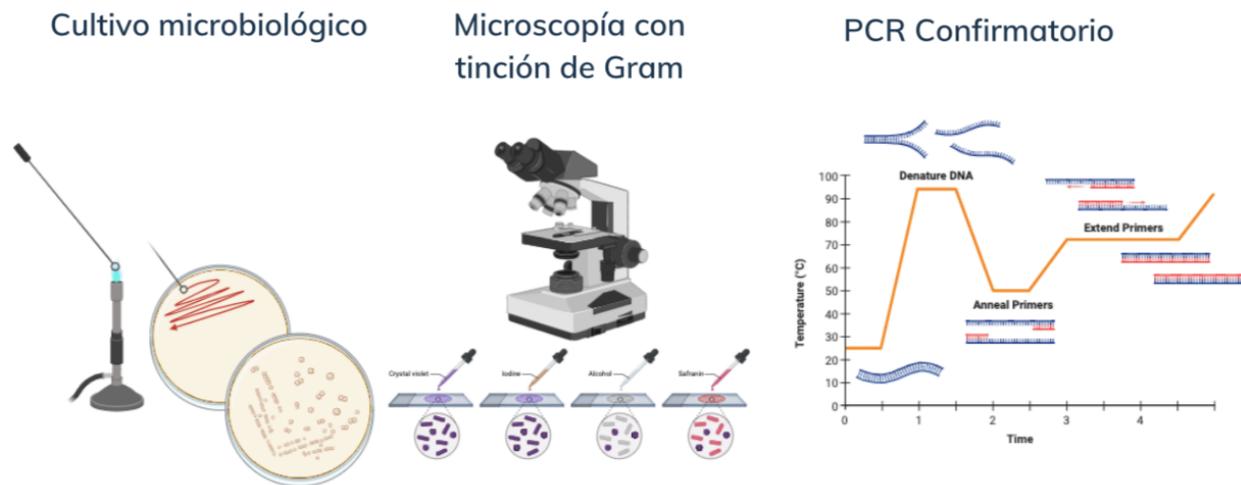


Figura 5. Figura que sintetiza el proceso de diagnóstico microbiológico para la detección de *Candida spp.* a a partir de improntas de contenido de buche.

6.6.3 DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

Para identificar las formas de dispersión parasitarias presentes en las heces de los loros, así como el grado de infección, se realizó examen coproparasitológico con dos técnicas: coproparasitológico directo y coproparasitológico por flotación.

6.6.3.1 Examen coproparasitológico directo.

Se tomó con una varilla de vidrio o hispo estéril una fracción de la muestra de heces fresca, equivalente en tamaño a un grano de arroz, y se coloca sobre un portaobjetos. Después, se colocó una gota de solución salina (NaCl) al 0.9% sobre la fracción de heces, y se diluyó con la varilla de vidrio hasta conseguir una mezcla casi homogénea y transparente. Finalmente, se cubrió con un cubreobjetos y se observó al microscopio con diferentes aumentos. Esta técnica se realizó *in situ* en cada cautiverio durante la colecta de muestras.

6.6.3.2 Examen coproparasitológico por flotación.

Para este análisis, se homogenizaron con el mortero 2 gramos de heces y 20 mL de agua. Después, se filtró la solución utilizando el colador y el filtrado se colectó en tubos de ensayo de 15

mL con tapa para así poder centrifugarlos a 100 rpm durante un minuto y decantar el sobrenadante. Una vez decantado, al sedimento se le diluyó nuevamente con la solución glucosada hasta formar un menisco en la superficie del tubo de ensayo.

La muestra se obtuvo al colocar un cubreobjetos sobre el menisco, dejándolo reposar por al menos 10 minutos, para formar una impresión del material flotante. Finalmente se colocó el cubreobjetos con la impresión en un portaobjetos y se evaluó en el microscopio.

Esta técnica se llevó a cabo en el Laboratorio de Parasitología de la FMVZ-UANL.

6.6.3.3 Número de repeticiones y evaluación cualitativa de muestras.

Se realizó un estudio con repeticiones 3x3 (Figura 6). De cada muestra fecal se hicieron tres procesados con solución salina al 0.9% o solución glucosada (dependiendo la técnica) y de cada procesado se tomaron tres impresiones en cubreobjetos distintos para evaluarlos al microscopio, dando como resultado nueve observaciones por muestra de heces con cada técnica.

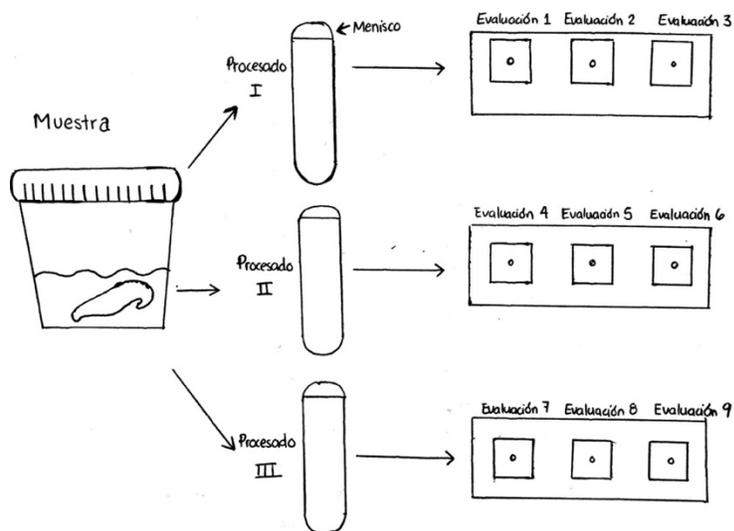


Figura 6. Ejemplo ilustrativo del examen coproparascópico con repeticiones 3x3 a partir de una muestra fecal colectada en campo, procesada con técnica de flotación. Adaptado de: Burgueño-Martínez et al. (2022).

La evaluación cualitativa de los resultados se dividió en dos partes: la identificación de la forma de dispersión parasitaria según su morfología y tamaño; y la determinación del grado de infección según lo propuesto por Zárate-Ramos (2016), donde se expresa el grado de infección con

signos +, ++, +++ para categorizar la cantidad de estadíos parasitarios encontrados, como lo muestra la *Tabla 7*:

Tabla 7. Grados de infección parasitaria según el número de estadíos parasitarios detectados en la preparación (Zárate-Ramos, 2016).

Grado de infección parasitaria	
Categoría	Descripción
0	Ningún estadío parasitario
(+)	Infección ligera, 1-5 estadíos por preparación
(++)	Infección moderada, 5-10 estadíos por preparación
(+++)	Infección grave, más de 10 estadíos por preparación

6.6.4 DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

Sólo cuando un deceso fuese remitido por alguno de los cautiverios enlistados o durante un decomiso, se realizará un procedimiento de necropsia y colecta de órganos afectados para examinar macroscópica y microscópicamente las lesiones por medio de la técnica histopatológica. Los órganos en los cuales se pueden encontrar lesiones sugestivas de los agentes etiológicos antes estipulados incluyen: plumas, cerebro, tráquea, pulmón, buche, proventrículo, intestino delgado, hígado, riñón, bolsa de Fabricio y cloaca. Dicha examinación se llevó a cabo en el Laboratorio de Histopatología de la FMVZ-UANL.

6.7 NORMATIVIDAD

6.7.1 PROTOCOLO DE MANEJO DE ANIMALES ACORDE A LAS NORMAS OFICIALES MEXICANAS Y PROTOCOLOS DE BIOÉTICA Y BIENESTAR ANIMAL

El Artículo 21 de la Ley General de Vida Silvestre (2021) establece que:

La Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales promoverá que las instituciones de educación básica, media superior, superior y de investigación

*desarrollen programas de educación ambiental, capacitación, **formación profesional** e investigación científica y tecnológica para apoyar las actividades de conservación y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre y su hábitat.*

Este estudio se trata de una tesis de maestría para obtener el grado de Maestro en Ciencia Animal por la UANL, así que, de acuerdo a lo establecido en dicho artículo, se promueve el trato digno, la salud y el bienestar animal que la misma Ley General de Vida Silvestre busca garantizar para los psitácidos en cautiverio, a través del diagnóstico y monitoreo de enfermedades infecciosas.

La Ley General de Vida Silvestre en su **Artículo 60-Bis 2** adicionado al Diario Oficial de la Federación (DOF) en 2008, provee a los psitácidos mexicanos condiciones de protección especial en el territorio nacional:

Artículo 60 Bis 2.- Ningún ejemplar de ave correspondiente a la familia Psittacidae o psitácido, cuya distribución natural sea dentro del territorio nacional, podrá ser sujeto de aprovechamiento extractivo con fines de subsistencia o comerciales.

La Secretaría sólo podrá otorgar autorizaciones de aprovechamiento extractivo con fines de conservación o investigación científica. Únicamente se otorgarán autorizaciones para investigación científica a instituciones académicas acreditadas.

Queda prohibida la importación, exportación y reexportación de cualquier ejemplar de ave correspondiente a la familia Psittacidae o psitácido, cuya distribución natural sea dentro del territorio nacional.

Las especies de psitácidos no comprendidas en el presente artículo quedan sujetas a las disposiciones previstas en las demás leyes y Tratados Internacionales de los cuales México sea parte.

La colecta de muestras sanguíneas, hisopados y heces no representa ningún tipo de aprovechamiento extractivo o no extractivo, pues no hay un fin lucrativo que perseguir. Por ende, no se requiere mayor autorización que la destinada a las instituciones de educación e investigación

para realizar y desarrollar trabajos de investigación, así como a las Unidades de Manejo de Vida Silvestre (UMA) o los Predios e Instalaciones que Manejen Vida Silvestre en forma confinada (PIMVS) para implementar medidas de medicina preventiva, monitoreo y diagnóstico de enfermedades que velen por el bienestar y la sanidad de los ejemplares puestos bajo su custodia, de acuerdo a su **Plan de manejo** (Art. 40 y Art.78 de la Ley General de Vida Silvestre, 2018).

Finalmente, el protocolo descrito de manejo y colecta de muestras en aves psitácidas fue examinado y aprobado por el Comité de Bioética y Bienestar Animal de la FMVZ UANL en el **dictamen 071/2022 con folio 062/2022**.

6.7.2 PROTOCOLO DE MANEJO DE MATERIAL BIOLÓGICO Y REACTIVOS

La colecta de muestras se realizó con todo el equipo de bioseguridad e higiene aquí descritos, minimizando en gran medida el riesgo de transmisión de enfermedades o problemas de sanidad durante el manejo y análisis de muestras para todos los involucrados.

Todas las muestras fueron transportadas con un recipiente hermético y un medio de conservación que inhibe el crecimiento de potenciales patógenos.

Las muestras se manejaron en el laboratorio correspondiente considerando todas las medidas de higiene y bioseguridad, tales como: uso de guates de nitrilo, bata, googles plásticos y cubrebocas. Adicionalmente, para extraer DNA o RNA de los hisopados, se usó la Campana de Bioseguridad Nivel II Prendo CSB120 ® del Laboratorio de Virología FMVZ-UANL.

Además, se desinfectó el equipo de procesamiento de muestras (microscopio, mesas, asa coprológica, superficies) con Cloruro de benzalconio (150 mg/mL) y se desecharon los materiales desechables, heces y materiales contaminados con secreciones en Bolsas de polietileno color ROJO para RPBI, siguiendo los lineamientos del **DOI-040 Manual de RPBI FMVZ-UANL**.

Este protocolo fue examinado y aprobado por el Comité de Bioseguridad e Higiene de la FMVZ UANL con el **dictamen 092** con fecha 11 de mayo de 2023.

7. RESULTADOS

7.1 DETECCIÓN MOLECULAR

7.1.1 FRECUENCIA MOLECULAR DE ENFERMEDADES VIRALES

7.1.1.1 Enfermedad de Pacheco

Se pudieron detectar amplicones compatibles (*Fig. 8*) de 310 y 394 pb, con los iniciadores Clone 11, de acuerdo con lo descrito por Tomaszewski y colaboradores (2001).

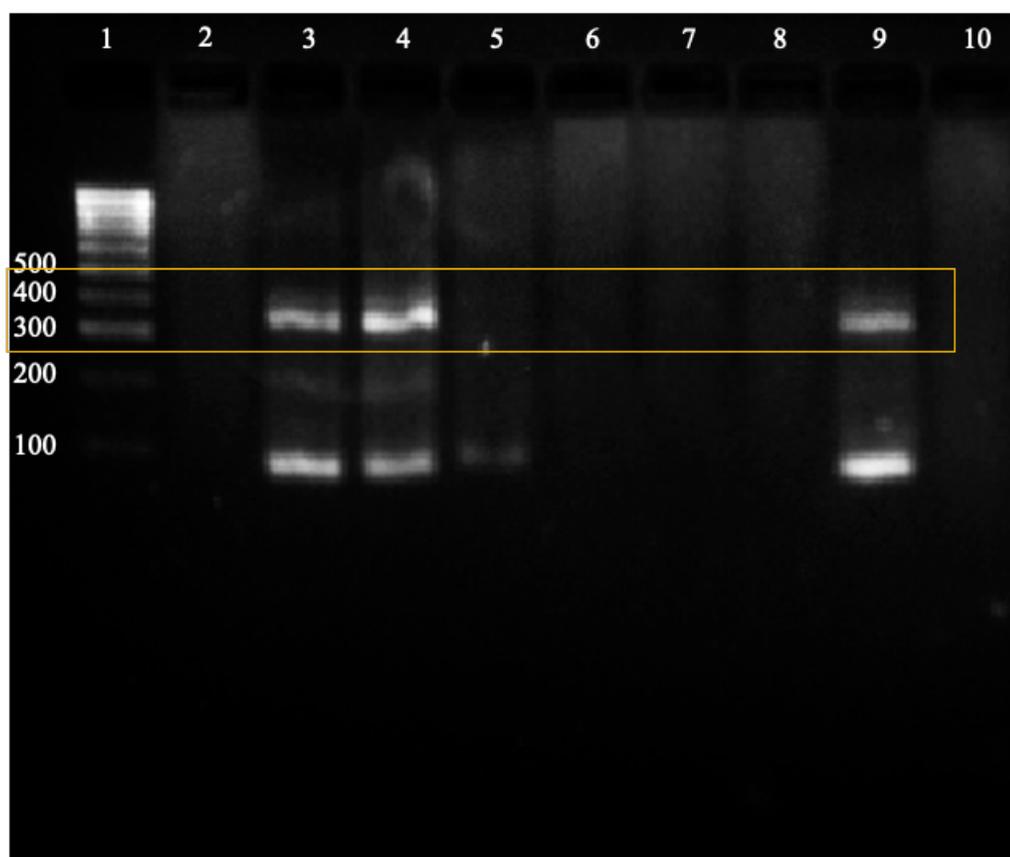


Figura 7. Productos amplificados para Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos. En la imagen se puede apreciar en el carril 1 el Marcador de peso molecular (MPM), carril 2 control negativo, carril 3 control positivo, carriles 4-10 muestras. Se observan bandas asociadas a productos de amplificación (310 y 394 pb) en los carriles 4 y 9.

La frecuencia general de Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos en función de la especie resume en la *Tabla 8*. Se detectó una frecuencia de 20% a partir de sangre e hisopados cloacales. El desglosado considerando el tejido en el que fue detectado el virus y la especie se incluye en la *Tabla 9*. Es destacable que la sangre fue el tejido que mayor frecuencia relativa mostró, en contraste con la impronta de cloaca. La forma de replicación viral y la latencia característica de los Herpesvirus puede ser la razón de esta condición.

Tabla 8. Frecuencia general de Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos por especie.

Especie	Herpesvirus 1 de los psitácidos			Frec.relativa especie (%)
	Positivos	Negativos	Total	
<i>Amazona auropalliata</i>	4	3	7	57
<i>Amazona albifrons</i>	5	17	22	23
<i>Amazona autumnalis</i>	0	3	3	0
<i>Amazona xantholora</i>	0	1	1	0
<i>Amazona viridigenalis</i>	0	3	3	0
<i>Ara macao</i>	1	11	12	8
<i>Ara militaris</i>	2	11	13	15
<i>Psittacara holochlorus</i>	1	0	1	100
<i>Eupsittula nana</i>	0	2	2	0
<i>Pionus senilis</i>	0	1	1	0
Total	13	52	65	20
Frecuencia (%)	20	80	100	100

Tabla 9. Frecuencia relativa de Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos desglosada por tejido del cuál se colectó muestra y por especie.

Herpesvirus 1 de los psitácidos						
Especie	Muestra sanguínea			Hisopado cloacal		
	Positivos	Negativos	Frec.relativa especie (%)	Positivos	Negativos	Frec.relativa especie (%)
<i>Amazona auropalliata</i>	3	4	43	1	6	14
<i>Amazona albifrons</i>	3	18	14	2	20	9
<i>Amazona autumnalis</i>	0	3	0	0	2	0
<i>Amazona xantholora</i>	0	1	0	0	1	0
<i>Amazona viridigenalis</i>	0	3	0	0	1	0
<i>Ara macao</i>	1	11	8	0	12	0
<i>Ara militaris</i>	2	11	15	0	12	0
<i>Psittacara holochlorus</i>	1	0	100	/	/	/
<i>Eupsittula nana</i>	0	2	0	0	2	0
<i>Pionus senilis</i>	0	1	0	0	1	0
Total	10	54	16	3	57	5
Frecuencia (%)	15.6	84.4	100.0	5.00	95.0	100.00

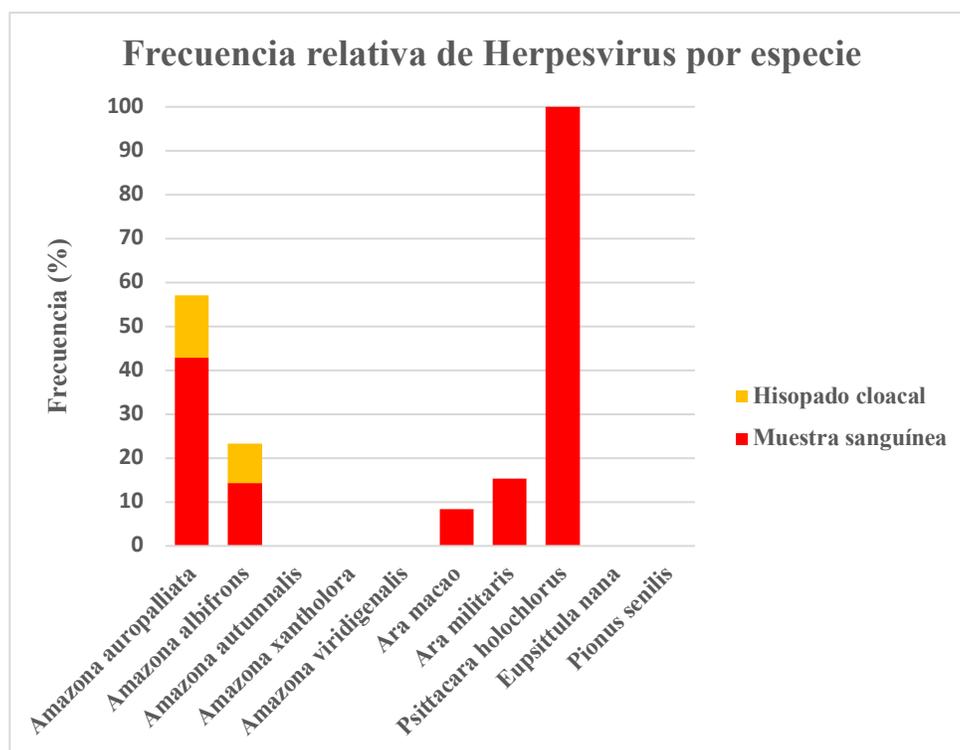


Figura 8. Gráfica de frecuencia de Herpesvirus 1 por especie, enfatizando el tejido en que fue detectado el virus.

En función de la región de origen de las aves, se observó una mayor frecuencia en la región Sur-sureste en las UMAS pertenecientes a Chiapas y Quintana Roo. Mientras tanto, la región Centro-occidente, representada por San Luis Potosí, tuvo una frecuencia relativa del 20%, y finalmente la región noreste tuvo la menor frecuencia relativa de Herpesvirus 1.

Tabla 10. Frecuencia relativa de Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos por región de origen.

Región de origen	Herpesvirus 1 de los psitácidos			Frec.relativa región (%)*
	Positivos	Negativos	Total	
Región Noreste	2	11	13	15
Región Centro-occidente	1	4	5	20
Región Sur-sureste	10	37	47	21
Total	13	52	65	20
Frecuencia (%)	20.0	80.0	100	100

* No se encontró diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre las frecuencias relativas de las regiones utilizando una prueba de Chi-cuadrada.

7.1.1.2 *Polioma aviar*

No se detectaron amplicones compatibles de 831 pb siguiendo el protocolo descrito por Altan y colaboradores (2016) y los ajustes de estandarización descritos en Materiales y métodos.

7.1.2 FRECUENCIA MOLECULAR DE ENFERMEDADES BACTERIANAS Y MICÓTICAS

7.1.2.1 Psitacosis

Se pudieron detectar amplicones compatibles con *Chlamydophila spp.* (Fig. 9) de 1094 pb, de acuerdo con lo descrito por Sykes y colaboradores (1997).

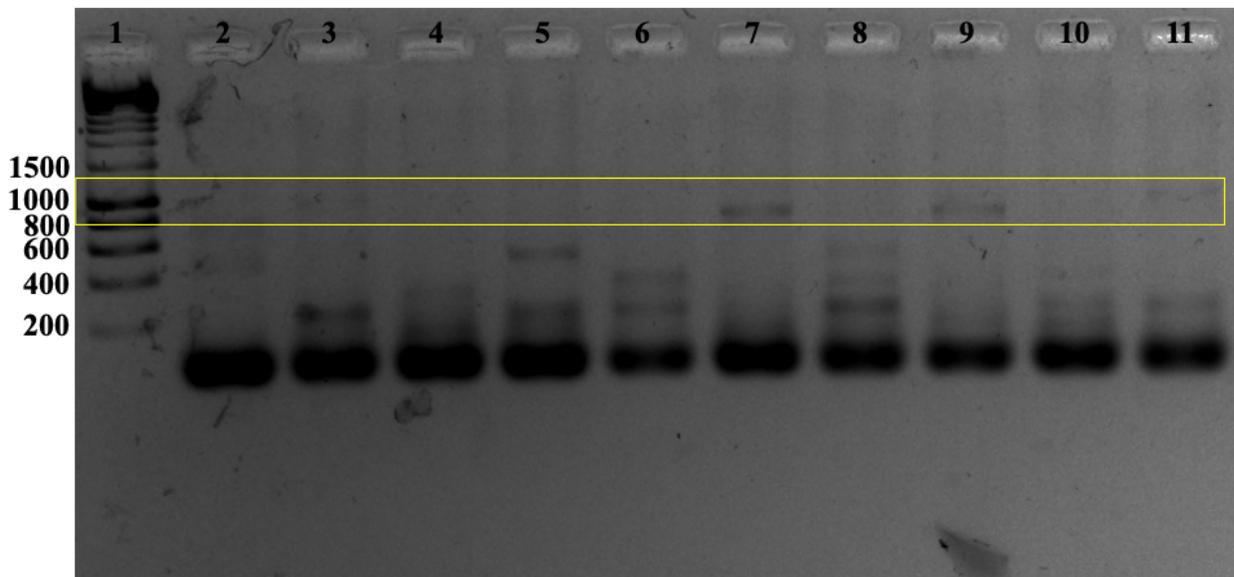


Figura 9. Productos amplificados para *Chlamydophila spp.* En la imagen se puede apreciar en el carril 1 el Marcador de peso molecular (MPM), carril 2 control negativo, carril 3 control positivo, carriles 4-11 muestras analizadas. Se observan bandas asociadas a productos de amplificación (1094 pb) en los carriles 7 y 9.

La frecuencia de *Chlamydophila spp.* en función de la especie resume en la Tabla 10. Se detectó una frecuencia general de 20% a partir de sangre e hisopados cloacales. El desglosado considerando el tejido en el que fue detectada la bacteria intracelular y la especie se incluye en la Tabla 11. Contrario a lo encontrado en Herpesvirus, la impronta de cloaca fue el tejido con mayor frecuencia relativa para *Chlamydophila spp.* Las estrategias de replicación y diseminación del patógeno intracelular seguramente están implicadas en este hecho, pues como se mencionó anteriormente, la bacteria se replica y es metabólicamente activa sólo al interior de la célula diana,

y se disemina en las heces de las aves, por lo que encontrarla circulando en sangre en niveles elevados puede ser desafiante.

Tabla 11. Frecuencia general de *Chlamydophila* spp. por especie.

Especie	<i>Chlamydophila</i> spp.			
	Positivos	Negativos	Total	Frec.relativa especie (%)
<i>Amazona auropalliata</i>	5	2	7	71
<i>Amazona albifrons</i>	5	17	22	23
<i>Amazona autumnalis</i>	1	2	3	33
<i>Amazona xantholora</i>	0	1	1	0
<i>Amazona viridigenalis</i>	0	3	3	0
<i>Ara macao</i>	1	11	12	8
<i>Ara militaris</i>	0	13	13	0
<i>Psittacara holochlorus</i>	0	1	1	0
<i>Eupsittula nana</i>	1	1	2	50
<i>Pionus senilis</i>	0	1	1	0
Total	13	52	65	20
Frecuencia (%)	20.0	80.0	100.0	100.0

Tabla 12. Frecuencia relativa de *Chlamydophila* spp. desglosada por tejido del cuál se colectó muestra y por especie.

Especie	<i>Chlamydophila</i> spp.					
	Muestra sanguínea			Hisopado cloacal		
	Positivos	Negativos	Frec.relativa especie (%)	Positivos	Negativos	Frec.relativa especie (%)
<i>Amazona auropalliata</i>	5	2	71	0	7	0
<i>Amazona albifrons</i>	0	21	0	5	17	23
<i>Amazona autumnalis</i>	0	3	0	1	1	50
<i>Amazona xantholora</i>	0	1	0	0	1	0
<i>Amazona viridigenalis</i>	0	3	0	0	1	0
<i>Ara macao</i>	0	12	0	1	11	8
<i>Ara militaris</i>	0	13	0	0	12	0
<i>Psittacara holochlorus</i>	0	1	0	0	1	/
<i>Eupsittula nana</i>	0	2	0	1	1	50
<i>Pionus senilis</i>	0	1	0	0	1	0
Total	5	59	8	8	53	13
Frecuencia (%)	7.8	92.2	100.0	13.11	86.9	100.00

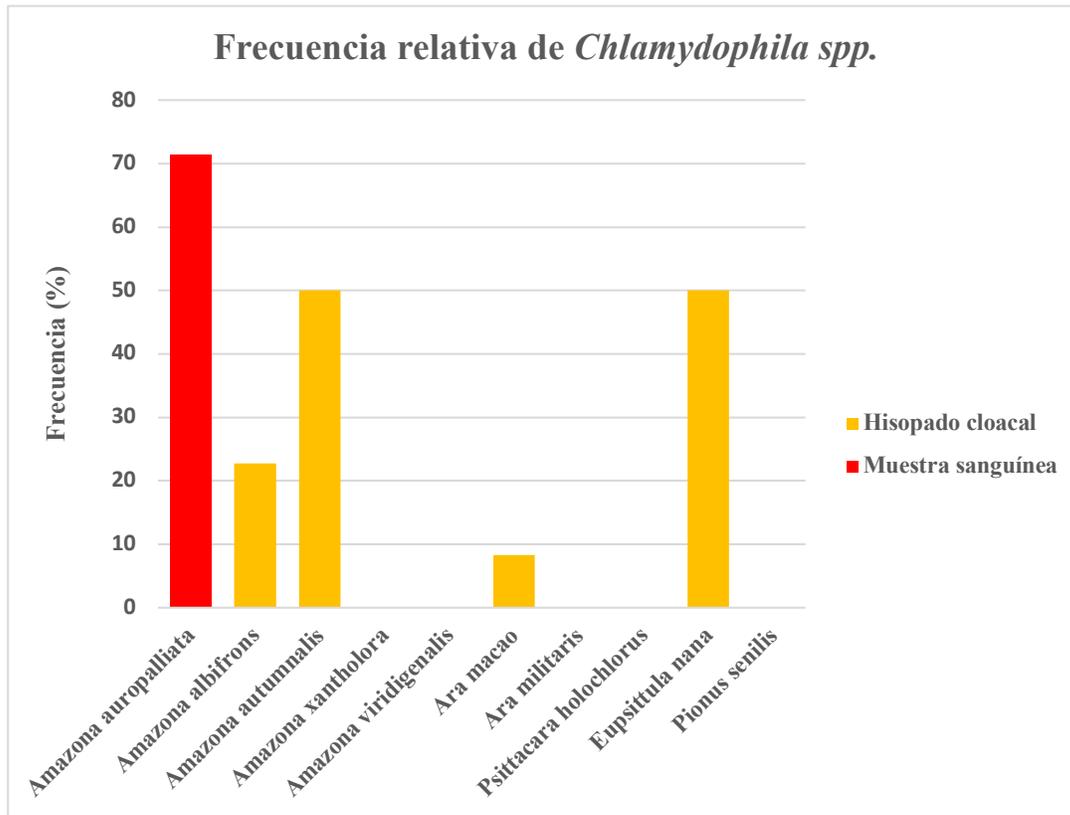


Figura 10. Gráfica de frecuencia de *Chlamydophila* spp. por especie, enfatizando el tejido en que fue detectada la bacteria.

En términos de la región de origen, todas las aves positivas a la bacteria intracelular pertenecían a la región Sur-sureste de México.

Tabla 13. Frecuencia relativa de *Chlamydophila* spp. por región de origen.

Región de origen	<i>Chlamydophila</i> spp.			Frec. relativa región (%) *
	Positivos	Negativos	Total	
Región Noreste	0	13	13	0
Región Centro-occidente	0	5	5	0
Región Sur-sureste	13	34	47	28
Total	13	52	65	20
Frecuencia (%)	20.0	80.0	100	100

* Se encontró diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre las frecuencias relativas de las regiones utilizando una prueba de Chi-cuadrada.

De igual manera, es destacable que en algunos individuos se detectó material genético compatible tanto con Herpesvirus tipo 1 como con *Chlamydophila spp*, sugiriendo infecciones mixtas y, en la mayoría de los casos, sin signología clínica evidente.

La frecuencia general por especie de infecciones mixtas se resume a continuación:

Tabla 14. Frecuencia de co-infecciones de Herpesvirus 1 y *Chlamydophila spp*. por especie.

Especie	Co-infecciones Herpesvirus + <i>Chlamydophila</i>			Frec.relativa especie (%)
	Positivos	Negativos	Total	
<i>Amazona auropalliata</i>	3	4	7	43
<i>Amazona albifrons</i>	1	21	22	5
<i>Amazona autumnalis</i>	0	3	3	0
<i>Amazona xantholora</i>	0	1	1	0
<i>Amazona viridigenalis</i>	0	3	3	0
<i>Ara macao</i>	0	12	12	0
<i>Ara militaris</i>	0	13	13	0
<i>Psittacara holochlorus</i>	0	1	1	0
<i>Eupsittula nana</i>	0	2	2	0
<i>Pionus senilis</i>	0	1	1	0
Total	4	61	65	6
Frecuencia (%)	6.2	93.8	100.0	100.0

7.2 DETECCIÓN MICROBIOLÓGICA

7.2.1 ENFERMEDADES FÚNGICAS Y BACTERIANAS

7.2.1.1 Co-infección en deceso remitido: Enfermedad de Pacheco y Candidiasis

Un ejemplar de *Ara militaris* macho fue remitido por un cautiverio participante para su evaluación *post mortem*. El ave presentaba un cuadro de caquexia crónica progresiva y murió súbitamente. Al realizar la necropsia se colectó un hisopado de la pared del buche para realizar el proceso de detección microbiológica de levaduras del género *Candida*, dando evidencias sugestivas por medio de cultivo, improntas teñidas con Gram y PCR. Se infiere que las levaduras oportunistas proliferaron de manera secundaria a una infección primaria por Herpesvirus 1, la cual fue confirmada por PCR a partir de una muestra sanguínea. No se encontró evidencia histopatológica del herpesvirus.



Figura 11. Necropsia de ejemplar de *Ara militaris* remitido para su evaluación *post-mortem*.

7.2.1.2 Co-infección en paciente aviar particular: Psitacosis, Pseudomoniasis y Candidiasis

A continuación se describe un caso de un paciente aviar que no formó parte del universo del estudio, pero que fue valioso para sus objetivos ya que permitió estandarizar la técnica de detección microbiológica y molecular de levaduras del género *Candida*, proveyéndonos de un control positivo.

Anamnesis

Se recibió en consulta particular un paciente aviar de la especie *Amazona autumnalis* (Figura 11), hembra, de 4 años de edad. Los signos clínicos incluían disnea, secreción de moco, conjuntivitis, inapetencia, caquexia, letargia y una condición corporal 2/5 con el hueso de la quilla marcado. Compartía espacio con un loro de la especie *Amazona viridigenalis* que no había presentado signos de enfermedad. El paciente murió tras 72 horas de atención veterinaria y se practicó la necropsia. Ambos loros mostraron evidencia molecular de una infección por *Chlamydophila spp.* (descripción detallada en la sección de Histopatología).

Hallazgos microbiológicos

Se colectaron muestras de exudado traqueal, hisopado de buche y un fragmento de hígado y se remitieron al Laboratorio de Microbiología FMVZ-UANL para su cultivo.

En agar papa dextrosa (PDA) hubo crecimiento, a partir del hisopado de buche, de colonias blanquecinas, de consistencia cremosa, con morfología redonda, compatibles con *Candida spp* (Figura 12). Al realizar una impronta de la colonia y teñirla con tinción de Gram, se observaron células redondas Gram positivas igualmente compatibles con blastoconidias de *Candida spp.* (Figura 13). Se realizó confirmación molecular por PCR Punto final, confirmando la compatibilidad de las levaduras con el género *Candida*.

Adicionalmente, hubo crecimiento de colonias pequeñas de color verde brillante, compatibles con *Pseudomonas spp.*, en agar Müller-Hinton (MH), a partir del exudado traqueal y el fragmento de hígado.



Figura 12. *Amazona autumnalis*. Hembra. Remitido por un particular con disnea, anorexia crónica y diarrea. Se encontró evidencia compatible con un cuadro infeccioso mixto con presencia de *Chlamydophila psittaci*, *Pseudomonas spp.*, y *Candida spp.*



Figura 13. Colonias de levaduras compatibles morfológicamente con *Candida spp.* Agar PDA.

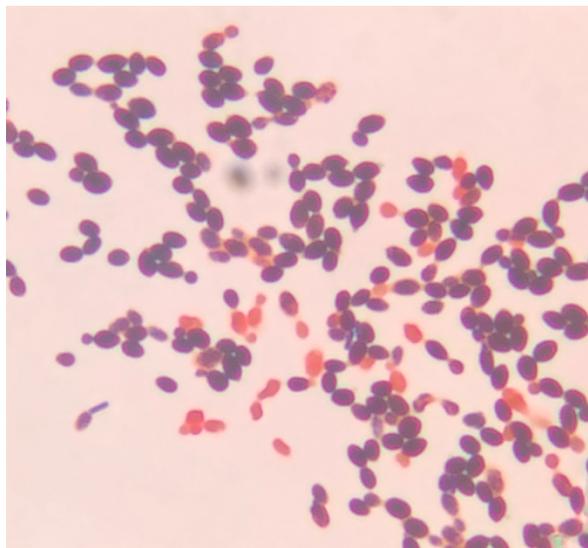


Figura 14. Blastoconidias de *Candida spp.* Impronta de hisopado de buche. Tinción de Gram. 100x.

7.3 EXAMINACIÓN PARASITOLÓGICA

Cinco aves presentaron evidencia de formas de dispersión parasitarias: 1 *Amazona autumnalis*, 1 *Ara macao*, y 3 *Ara militaris*. Todos los casos fueron detectados con técnica de coproparasitoscópico directo.

Los grupos de parásitos gastroentéricos presentes fueron: cestodos compatibles con el orden *Cyclophyllidea* y nematodos compatibles con el género *Ascaridia* en el loro *Amazona* (Figura 14); y protozoarios flagelados compatibles con *Giardia spp.* en las guacamayas.

Como era de esperarse, la frecuencia de formas de dispersión parasitaria fue reducida, del 7.5%. La etología de las psitácidas es uno de los factores más importantes para esto, ya que son aves que permanecen perchadas casi todo el tiempo y que en muy determinadas ocasiones bajan al suelo. Evidentemente, la higiene y el diseño correcto del alojamiento son también factores de importancia. El acceso a comederos y bebederos elevados es indispensable para promover el bienestar animal de estas aves y prevenir enfermedades parasitarias.

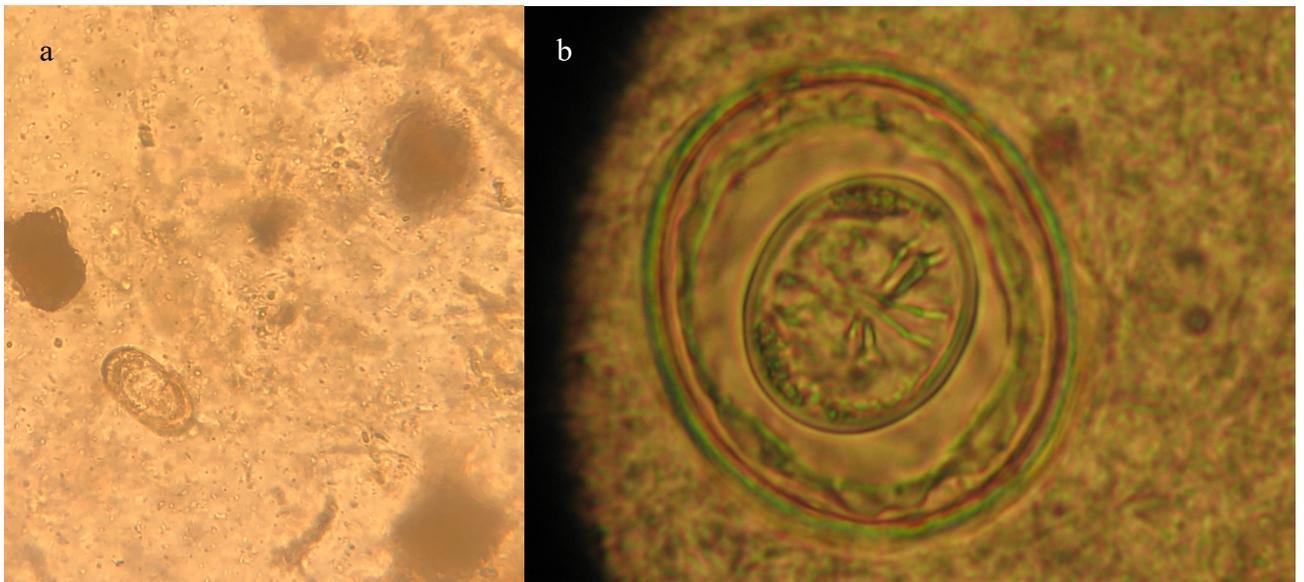


Figura 15. Formas de dispersión parasitarias compatibles con a) huevos de nematodo del género *Ascaridia* (40x) y b) huevos de cestodos del orden *Cyclophyllidea* (100x). *Amazona autumnalis*.

7.4 HISTOPATOLOGÍA

Dos aves fueron remitidas por las UMAS participantes del estudio para su evaluación *post mortem*: un ejemplar de *Ara militaris* (antes mencionado) y un ejemplar de *Amazona albifrons*. Ninguna de las aves presentó lesiones histopatológicas compatibles con los patógenos del estudio, a pesar de que la guacamaya militar sí presentó evidencia molecular de Herpesvirus en sangre.

Sin embargo, a continuación se describen dos casos remitidos por particulares durante la duración de este estudio que presentaron lesiones histopatológicas compatibles con Herpesvirus y *Chlamydophila psittaci*. Dichos ejemplares fueron valiosos ya que permitieron establecer los controles positivos para las pruebas moleculares, extrayendo DNA del tejido con lesiones.

7.4.1 ENFERMEDADES VIRALES

7.4.1.1 Enfermedad de Pacheco

Anamnesis

Se recibió en consulta particular un paciente aviar de la especie *Amazona farinosa* (Figura 15). El loro presentaba un cuadro clínico con signos respiratorios severos: disnea, moco, conjuntivitis. También, una condición corporal 1/5 con el hueso de la quilla muy marcado y heces de coloración verdosa brillante. El propietario refirió que tenía una condición crónica de letargia y caquexia. Otros loros en el aviario habían muerto recientemente con signos similares. Se sospechaba que los incidentes comenzaron después del ingreso de un *Amazona autumnalis* de origen desconocido y aparentemente asintomático. El paciente murió tras 10 horas de atención veterinaria y se practicó la necropsia.

Hallazgos

Macroscópicamente se encontró el hígado con zonas de necrosis coagulativa de color pálido, neumonía intersticial con algunas adherencias a la pleura y presencia de material mucoso al interior de la tráquea.

Microscópicamente, las lesiones se localizaron especialmente en hígado, con zonas de necrosis multifocal, infiltrados linfoplasmocitarios (*Figura 16*) y hepatocitos con cuerpos de inclusión basofílicos intranucleares sin cariomegalia (*Figura 17*), compatibles con Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos. Se confirmó la presencia de material genético del virus con técnica de PCR Punto final.



Figura 16. Amazona farinosa. Remitido por un particular con disnea severa y caquexia crónica. Se encontró evidencia histopatológica compatible con la Enfermedad de Pacheco.

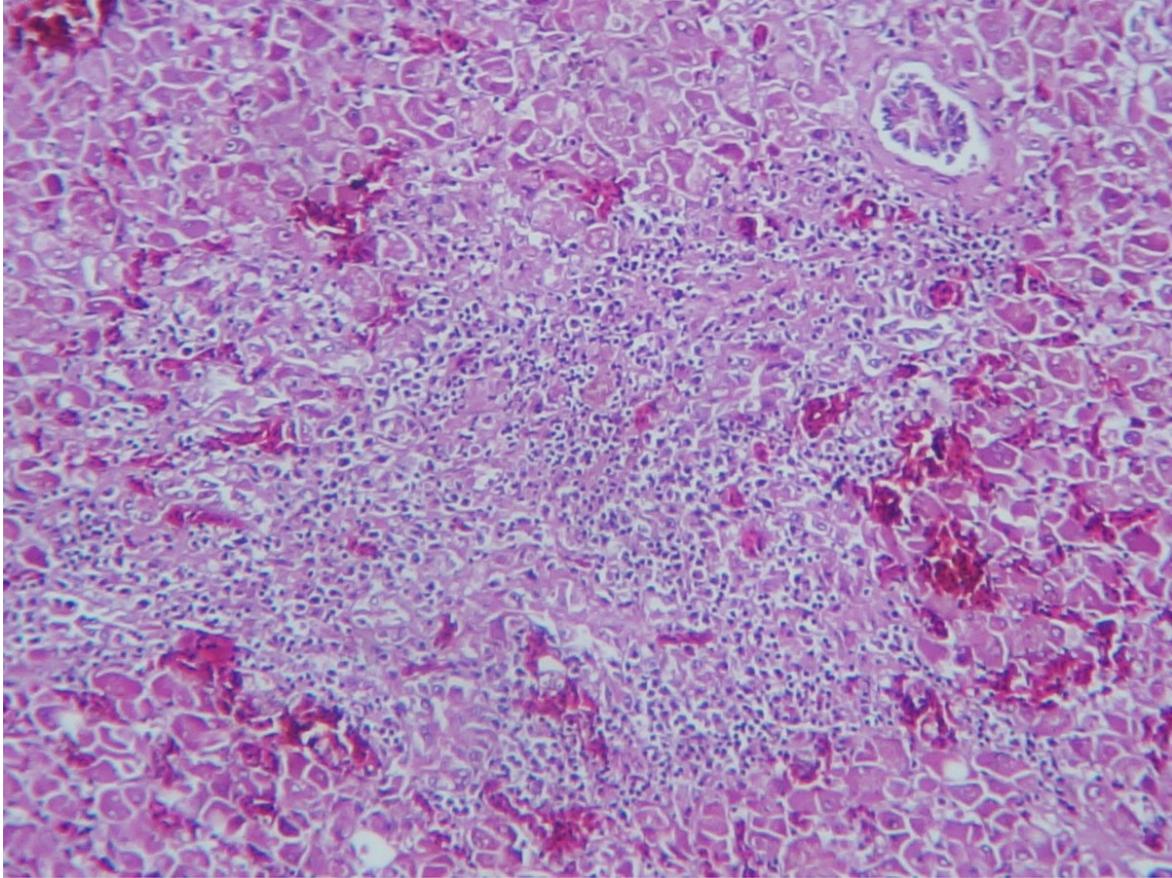


Figura 17. Necrosis hepática coagulativa con infiltrado linfoplasmocitario. Amazona farinosa. H&E. 10x.

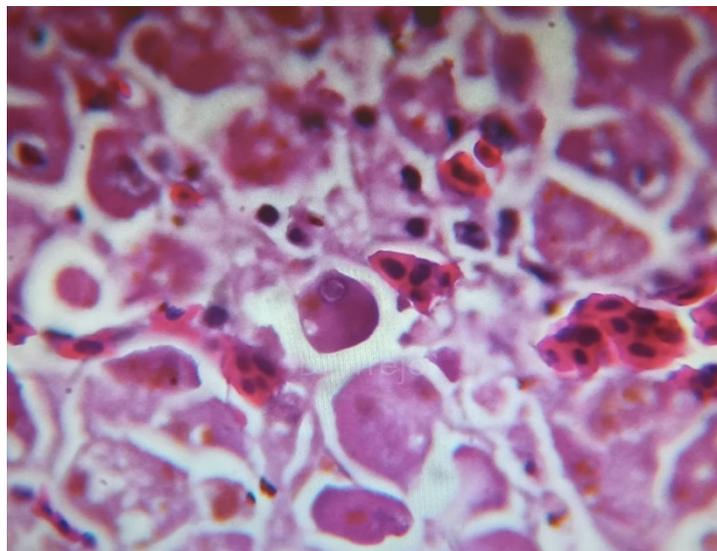


Figura 18. Cuerpo de inclusión intranuclear basofílico sin cariomegalia en hepatocito, lesión compatible con Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos (Enfermedad de Pacheco). Amazona farinosa. H&E. 100x.

7.4.2 ENFERMEDADES FÚNGICAS Y BACTERIANAS

7.4.2.1 Co-infección en paciente aviar particular: Psitacosis, Pseudomoniasis y Candidiasis

A continuación se describen a detalle los hallazgos histopatológicos compatibles con una infección por *Chlamydothraupis spp.*, en el loro *Amazona autumnalis* mencionado previamente en la sección de microbiología.

Hallazgos histopatológicos

Macroscópicamente se encontró el hígado con zonas de necrosis multifocal de color pálido, neumonía intersticial con poliserositis fibrinosa e hidropericardio.

Microscópicamente se encontraron monocitos circulantes en las zonas de necrosis hepática e infiltrados linfoplasmocitarios (*Figura 18*), además de inclusiones intracitoplasmáticas pálidas al interior de los hepatocitos (*Figura 19*). Se realizó tinción de Giménez en el mismo órgano y se encontraron inclusiones de estructuras cocoides color magenta compatibles con *Chlamydothraupis psittaci* (*Figura 20*). Se confirmó la presencia de material genético compatible con técnica de PCR Punto final.

Adicionalmente, se confirmó la presencia de bacilos gram negativos en intestino delgado, compatibles con el cultivo positivo de *Pseudomonas spp.*

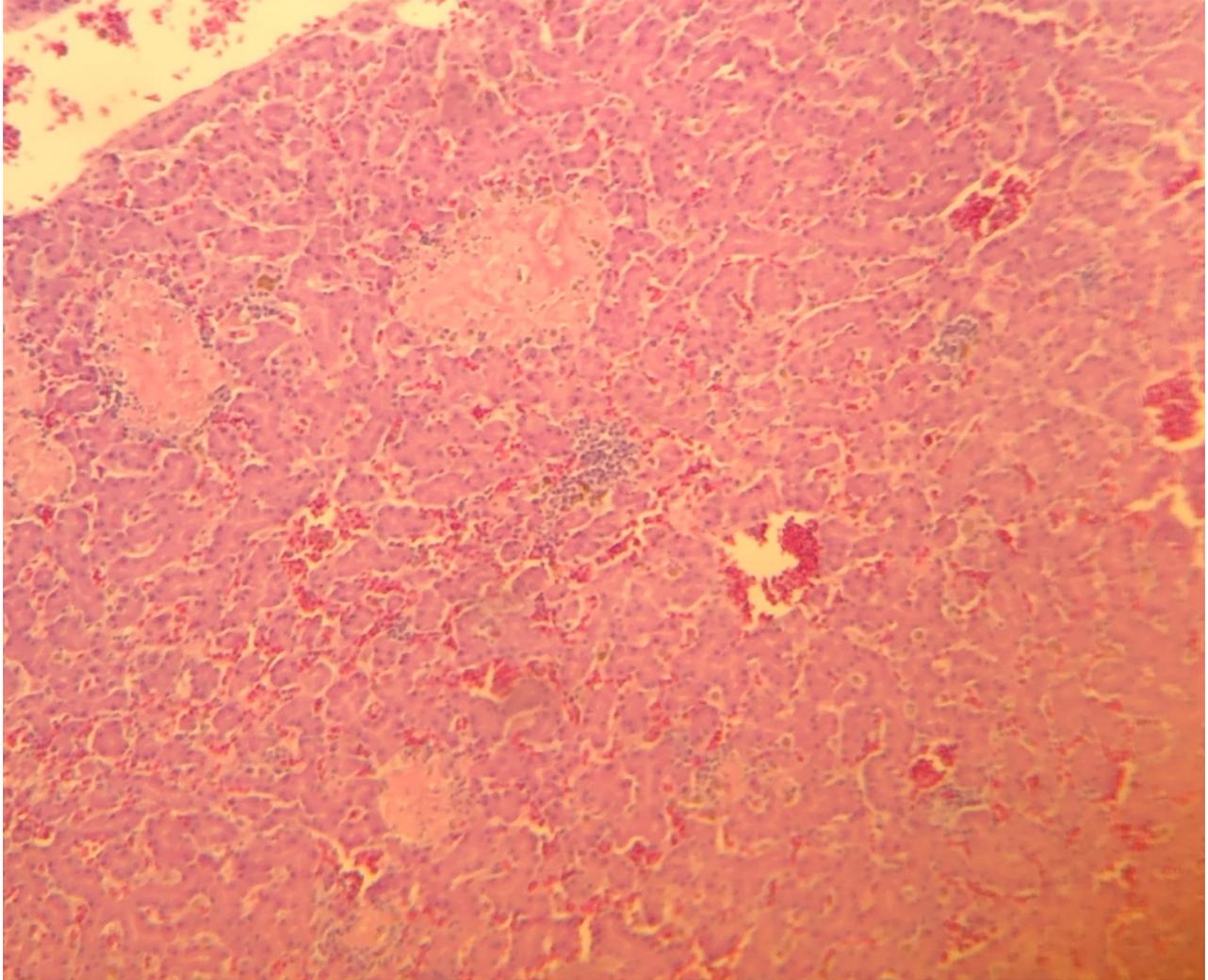


Figura 19. Necrosis coagulativa multifocal. Hígado. Amazona autumnalis. H&E. 40x.

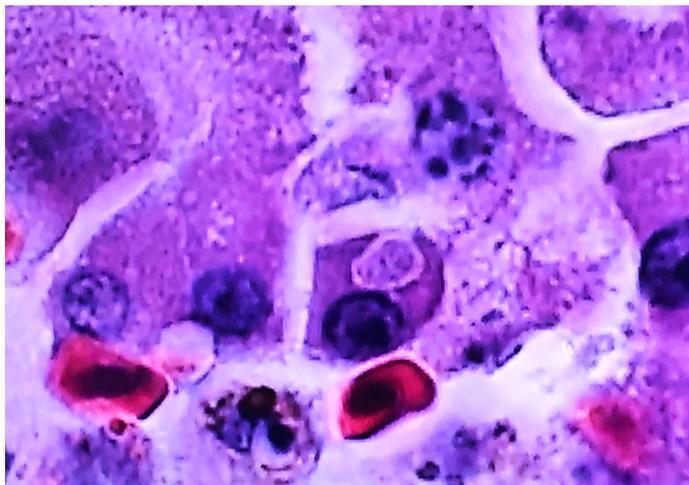


Figura 20. Vesícula parasitófora intracitoplasmática de tonalidad pálida ligeramente basofílica. Hígado. Amazona autumnalis. H&E. 100x.

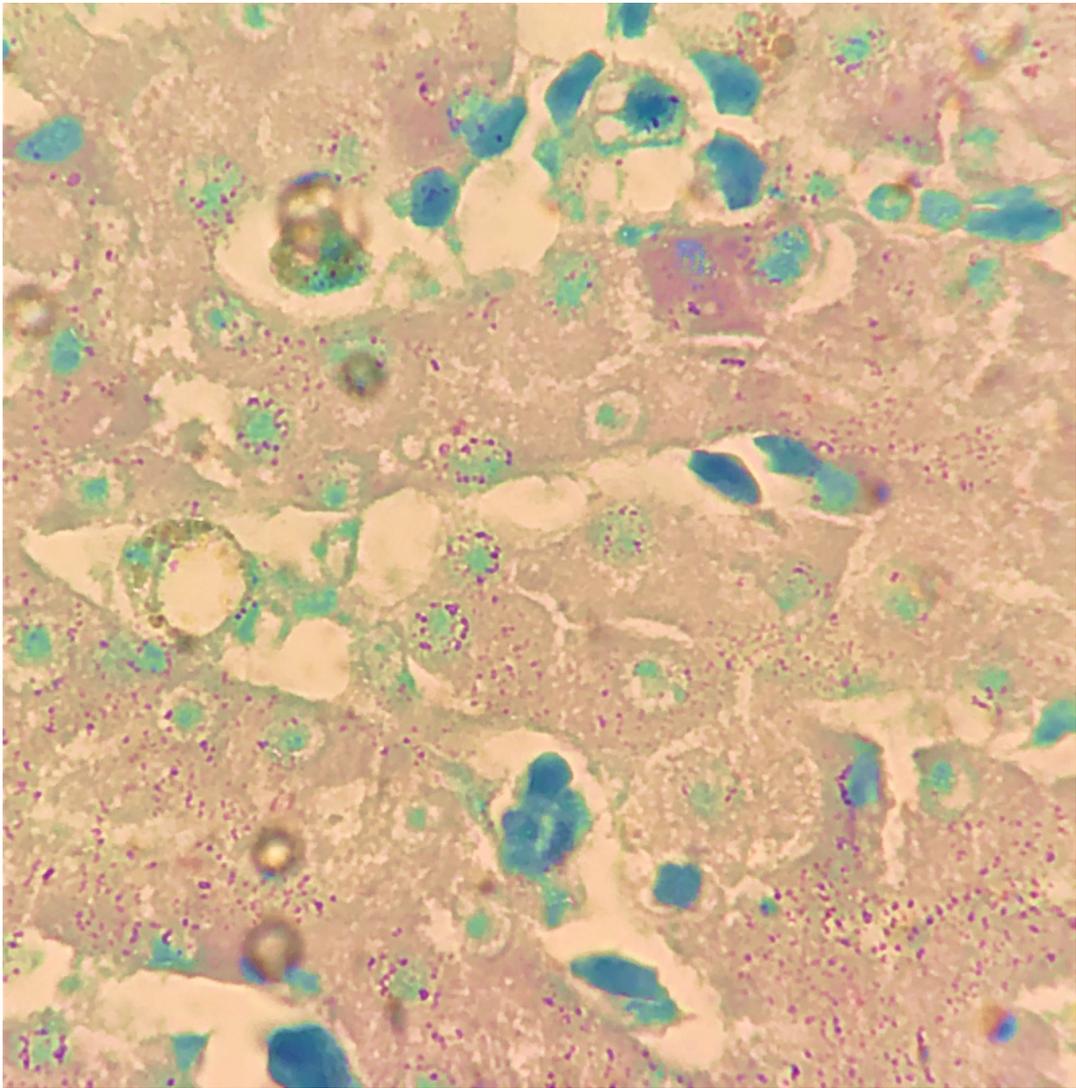


Figura 21. Inclusiones intracitoplasmáticas cocoides color magenta. Sugestivas de Clamidiosis. Hígado. Amazona autumnalis. Tinción de Giménez. 40x.

8. DISCUSIÓN

8.1 CONTRASTE DE FRECUENCIAS Y REGIONALIZACIÓN

Uno de los hallazgos más relevantes de la presente investigación es que la frecuencia de Herpesvirus tipo 1 de los psitácidos fue más elevada en comparación con otros estudios, como el de Turrall-Ramírez y colaboradores (2017). En este estudio los autores hacen un desglose de individuos de diferentes especies de psitácidos, tanto mexicanos como exóticos, con evidencia molecular del DNA viral, donde se puede derivar una frecuencia general del 18%. En nuestro estudio encontramos una frecuencia de 20% exclusivamente en especies de loros mexicanos. El estudio de Gómez-Garza y colaboradores (2017) reporta una frecuencia más elevada, de 25%, para Herpesvirus 1. Sin embargo, cabe destacar que su metodología implica el análisis molecular de pools de sangre de 10 aves cada uno, por lo que es desafiante determinar a nivel de individuo cuál es la frecuencia general y relativa por especie para poder contrastar mejor los hallazgos. Las causas que pueden llevar a este aumento de frecuencia a través del tiempo han sido discutidas con anterioridad. Gómez-Garza y colaboradores (2017) atribuyen los brotes de enfermedad de Pacheco en loros mexicanos al aumento en la población de loros exóticos en el territorio nacional, especialmente provenientes de Sudamérica, que han sido importados en masa, legal o ilegalmente, para saciar la demanda de loros mascota a raíz de la prohibición de las especies mexicanas en 2008. Turrall Ramírez y colaboradores (2017) describen la presencia del virus en algunas especies reservorio como *Aratinga solstitialis* y *Cyanoliseus patagonus*. Además, sus hallazgos confirman la presencia del virus en *Myopsitta monachus*, *Ara ararauna* y *Psittacara mitratus*, todas especies provenientes de Sudamérica, lo que abona a lo planteado por Gómez-Garza y colaboradores. Se requieren estudios posteriores que determinen la presencia del virus en loros exóticos invasores, especialmente de origen sudamericano, para confirmar este planteamiento, y seguir abonando al estudio de la dinámica epidemiológica de la enfermedad en México.

La frecuencia de Herpesvirus 1 es, relativamente, homogénea entre las regiones del país que abarcó el estudio. Es destacable que la región Sur-sureste es la que presentó una mayor frecuencia relativa, posiblemente porque algunas especies de psitácidos centroamericanas migran estacionalmente, o coalescen con las especies nativas en sus rangos de distribución, como el caso de *Psittacara rubritorquis* (Gómez-Garza, 2014). De igual manera, se puede hipotetizar que la

frontera sur de México es uno de los puentes geográficos que usan frecuentemente las redes de tráfico de aves para introducir, almacenar, y distribuir psitácidos capturados en sus países de origen, en Centroamérica y Sudamérica, para ser introducidos al mercado local y eventualmente llegar a Estados Unidos de América. Esto supondría que las poblaciones de loros de México que se distribuyen naturalmente en el sur del país, y que también son capturadas para el comercio ilegal, podrían estar en contacto directo, y más frecuente, con aves exóticas que portan el patógeno en cuestión.

Para el caso de Poliomavirus, este estudio no encontró evidencia molecular sugestiva del patógeno. Este hecho está en concordancia con lo reportado por Gómez-Garza y colaboradores (2017), quienes encontraron una frecuencia mínima (5%) en muestras sanguíneas organizadas en conjuntos. Una vez más, es desafiante determinar la frecuencia a nivel de individuo para contrastar en equidad de condiciones, pero los hallazgos en pool sugieren una muy escasa presencia de la enfermedad en México. Esta enfermedad ha sido reportada con mayor frecuencia en periquitos australianos (*Melopsittacus undulatus*), y en otros loros, como guacamayas del género *Ara*. Sin embargo, suele afectar aves jóvenes, menores a 5 semanas de vida, y tiene un curso agudo y mortal (Sánchez-Godoy, 2023). Este estudio muestreó aves psitácidas adultas que, si bien podrían ser reservorios, carecen de estas características. Quizá un monitoreo que determine la frecuencia de la enfermedad en polluelos nacidos en cautiverio, tanto de especies mexicanas como exóticas, y que asocie la convivencia entre estas como factor de riesgo, podría dilucidar en mayor medida la relevancia de la enfermedad en el territorio nacional.

En lo que se refiere a las infecciones por *Chlamydophila spp.* se encontró una frecuencia de 20% en este estudio. La recopilación histopatológica de Meza-Madrid y colaboradores (2017) identificó 8 infecciones por *Chlamydophila psittaci* de un total de 103 procesos bacterianos, lo que representa el 7.76%. Sin embargo, este mismo estudio describe 412 decesos en total, lo que reduciría la frecuencia de *Chlamydophila spp.* a cerca del 2% como causa de muerte. Una vez más, el contraste de frecuencias en equidad de condiciones con los hallazgos de Meza-Madrid, se ve impedido por la naturaleza divergente de nuestra pesquisa, pues se llevó a cabo *in vivo*. El estudio en pool de Gómez-Garza y colaboradores (2017) encontró una frecuencia mayor, de 25%, para *Chlamydophila psittaci*, con las limitantes que el pool supone para el contraste de resultados. En términos de regionalización, es sumamente destacable que la región Sur-sureste es la que albergó

todos los casos sugestivos de Clamidiosis. Extender el estudio a las regiones no incluidas es necesario para confirmar esta aparente tendencia, y para poder determinar factores de riesgo presuntivos. Sin duda la información que se aporta, en términos de frecuencia general de *Chlamydothila spp.* en psitácidos mexicanos, vivos, a nivel de individuo, es muy valiosa para el emprendimiento de nuevas investigaciones dedicadas a este importante patógeno zoonótico, especialmente en poblaciones de loros exóticos invasores y loros mascota.

En cuanto a las parasitosis, se encontró una frecuencia general del 7.5%. Contrastando los hallazgos con los antecedentes se puede apreciar una relativa similitud. Por ejemplo, Meza-Madrid y colaboradores (2019) reportaron una frecuencia de 6.31% para parasitosis en su recopilación histopatológica. Tanto Meza-Madrid y colaboradores como Gómez-Garza y colaboradores (2017) coinciden con el presente estudio en el hallazgo de nematodos del género *Ascaridia*. Además, se agregan en el presente hallazgos de cestodos del orden *Cyclophyllidea*, y protozoarios flagelados compatibles con *Giardia spp.*, abonando a la descripción del bagaje de formas de dispersión parasitarias reportadas en psitácidos mexicanos. La baja frecuencia es una constante y es hasta cierto punto esperada, ya que la etología de las psitácidas mexicanas incluye un comportamiento de percha casi permanente, con muy escasas aproximaciones al suelo, más que para obtener sales minerales de yacimientos, o para acceder a fuentes de agua, lo que las mantiene al margen de fuentes comunes de infección parasitaria. Los cautiverios mal diseñados, carentes de perchas, con piso de tierra, o compartidos con otras especies aviares (como gallináceas), son factores de riesgo que deben ser considerados, puesto que aumentan drásticamente la frecuencia de parasitosis y la manifestación de signología.

Finalmente, todos los casos descritos de Candidiasis fueron co-infecciones con patógenos primarios que inmunocomprometían a los loros. Esto va acorde a lo reportado en la literatura, abonando a la determinación de *Candida spp.* como un residente de la microbiota que se torna perjudicial en casos de infección primaria (Miller & Fowler, 2015; Meza-Madrid et al., 2019).

8.2 NUEVOS HALLAZGOS EN ESPECIES DE PSITÁCIDOS MEXICANOS

Otro de los hallazgos más relevantes del presente estudio es la presencia de la enfermedad de Pacheco y Clamidiosis en ciertas especies de psitácidos mexicanos.

Para el caso de Herpesvirus 1, este sería el primer reporte de la enfermedad en algunas especies de loros mexicanos, como: *Amazona auropalliata*, *Amazona albifrons* y *Psittacara holochlorus*.

En lo que se refiere a *Chlamydophila spp.*, es relevante denotar que todas las especies que mostraron evidencia molecular de la infección se distribuyen de manera natural en la región sureste: *Amazona auropalliata*, *Amazona albifrons*, *Amazona autumnalis*, *Ara macao* y *Eupsittula nana*. Con esto, surgen incógnitas sobre la importancia de estas especies como potenciales reservorios de la enfermedad, mismas que pueden estar correlacionadas a factores de riesgo propios de la región. Para confirmarlo, es necesario un estudio regional más extenso, dedicado a buscar este patógeno en aves de vida libre, así como en aves en cautiverio cuya trazabilidad permita ubicar su origen en el sureste mexicano.

8.3 ALCANCES Y LIMITACIONES

La principal limitación de la investigación aquí descrita es su carácter exploratorio y descriptivo, el cual limita las variables y el diseño experimental. Los resultados son el recuento del monitoreo de las enfermedades infecciosas del foco de estudio, detectadas con las técnicas descritas, en las poblaciones y regiones incluídas, pero no son representativos de las poblaciones en cautiverio, ni de las silvestres. Tampoco de todas las especies de psitácidos mexicanos, puesto que el acceso limitado a estas aves delimitó el estudio a sólo aquellas que estaban albergadas en las UMAs y PIMVS participantes, excluyendo a aquellas especies que no son frecuentemente decomisadas por su escaso, o nulo, valor comercial para las redes de tráfico de aves, por ejemplo los pequeños loros del género *Forpus*, o aquellos restringidos a parajes recónditos y bien conservados, como los de la especie *Pyrilia haematotis*. La relevancia de estudios como este en poblaciones silvestres de loros mexicanos es cuestionable, a menos que estos coalescan con poblaciones humanas o estén en contacto directo o potencial con especies de psitácidos exóticos.

A pesar de esto, la relevancia de este estudio está en el precedente que fija para ampliar la pesquisa a otras poblaciones de loros en cautiverio, de importancia para la salud pública, o con fines de conservación. Dos poblaciones objetivo deben ser, a propuesta de los colaboradores de este estudio, las siguientes: las aves psitácidas que cumplen un rol de animal de compañía, y que por ende representan un potencial riesgo a la salud pública; y las poblaciones de loros consideradas especies exóticas invasoras, como las de perico monje argentino (*Myopsitta monachus*), por su potencial para diseminar enfermedades infecciosas a las especies nativas, y de ocupar el nicho ecológico de estas. Medir el efecto que tienen estas parvadas de loros invasores es el primer paso, para marcar la directriz hacia un manejo de poblaciones perjudiciales, que abone a la protección y la conservación de las especies de loros nativos de México, especialmente aquellos considerados en peligro de extinción.

9. CONCLUSIÓN

Este estudio dedicó un acumulo de esfuerzos institucionales, y una extensa red de colaboración, para vislumbrar el efecto que tienen las enfermedades infecciosas en los psitácidos de México, y encontró que patógenos como Herpesvirus tipo 1 y *Chlamydophila spp.* están presentes en hasta el 20% de los individuos en cautiverio, demostrando que la importación de patógenos exóticos hoy es una realidad, y que una zoonosis que comprometa la salud pública puede ser una cuestión de tiempo, o está pasando desapercibida.

La hipótesis planteada se cumple en la mayoría de sus supuestos. La frecuencia de Herpesvirus 1 y de *Chlamydophila psittaci* superó la frecuencia esperada de 4-10%, mientras que para Polioma aviar no se detectaron casos compatibles. Las formas de dispersión parasitarias se encontraron sólo en el 7.5% de los individuos, como era de esperarse, considerando que la etología de los psitácidos los mantiene apartados de fuentes de infección cuando la higiene del recinto, su tamaño y diseño son adecuados. Finalmente, no se encontraron indicios de infecciones por *Candida albicans* en individuos clínicamente sanos, sólo en aves enfermas y decesos, lo que confirma su papel como un patógeno oportunista.

Considerando los hallazgos y su relevancia, es crucial extender el estudio a otras dos poblaciones de psitácidos: los loros que fungen como animal de compañía; y los loros exóticos invasores. Recabando más evidencia molecular, que pueda ser asociada a la manifestación clínica, el origen de las aves, y los factores medioambientales de su entorno, se pueden hacer contribuciones de gran importancia a la conservación de los loros mexicanos, a través de la medicina aviar.

Finalmente, los estudios posteriores en esta línea de investigación deben abordar la problemática con una perspectiva holística, que incluya no sólo a las aves en cuestión, sino a sus cuidadores, a los grupos de interés cercanos, el espacio geográfico que habitan, y las especies animales con las que coexistan. Sólo a través del enfoque de Una Sola Salud se conseguirá el involucramiento de la sociedad, se garantizará el bienestar de estos animales, se buscará la protección de su entorno y se salvaguardará la salud pública.

10. BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- Altan, E., Eravci, E., Cizmecigil, U. Y., Yildar, E., Aydin, O., Turan, N., Ozsoy, S., Tekelioglu, K. B., Kurt, T., Gerbaga Ozsemir, K., Altan, E., & Yilmaz, H. (2016). Detection and Phylogeny of Beak and Feather Disease Virus and Avian Polyomavirus in Psittacine Pet Birds in Turkey. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 25(4). <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2016.06.012>
- Angelov, A. D., Stefanova, P., & Angelov, A. I. (2015). Molecular identification of yeast using amplification and sequencing of ITS-15.8S-ITS2 rDNA region. *Scientific Work at the University of Russia*, 54(10.2).
- Burgueño-Martínez, A., Gómez-Garza, M., Zárate-Ramos, J. J., Moreno-Degollado, G., & Paz-Lara, J. A. (2022). *Monitoreo de endoparásitos en prociónidos (Procyonidae: Gray, 1825) en cautiverios del Estado de Chiapas*. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Cámara de Diputados- Centro de Estudios de las Finanzas Públicas. (2007, November 9). *Nota informativa: Propuesta PEF 2008 para Gasto regional*. <https://www.cefp.gob.mx/notas/2007/notacefp0612007.pdf>
- Cambrico Biotech Laboratory. (2015). *Enfermedades en aves: Enfermedad de Pacheco*. <https://cambri.co/veterinaria/enfermedades/>
- Cantú-Guzmán, J. C., Sánchez-Saldaña, M. E., Grosselet, M., & Silva-Gámez, J. (2007). *The Illegal Parrot Trade in Mexico: A Comprehensive Assessment*. (Defenders of Wildlife México & Teyeliz A.C., Eds.).
- Cantú-Guzmán, J. C., Sánchez-Saldaña, M. E., Grosslet, M., & Silva-Gámez, J. (2007). *The Illegal Parrot Trade in Mexico: A Comprehensive Assessment*.
- Carpenter, J. W., & Marion, C. (2018). *Exotic Animal Formulary*. Elsevier.
- Carpintero, D., Berkunsky, I., & Aramburú, R. (2011). First record of Blue-Crowned Parrot *Aratinga a. acuticaudata* (Aves: Psittacidae) as primary native host of *Ornithocoris toledo*

- Pinto (Cimicidae: Hemiptera: Heteroptera). *Revista Del Museo Argentino de Ciencias Naturales*, 13. <https://doi.org/10.22179/revmacn.13.223>
- Center of Disease Control. (2022, March 17). *Psittacosis: Disease specifics*. <https://www.cdc.gov/pneumonia/atypical/psittacosis/hcp/disease-specifics.html>
- CITES. (2023, November 25). *Apéndices I, II y III*. <https://cites.org/esp/app/appendices.php>
- Collar, N. J. (1997). Family Psittacidae. In J. Del Hoyo, A. Elliot, & J. Sargatal (Eds.), *Handbook of the Birds of the World* (Vol. 4). Lynx Edicions.
- Donald, P., Collar, N., Marsden, S., & Pain, D. (2013). *Facing extinction: The World's Rarest Birds and the Race to Save Them*. (2nd ed.). T & AD Poyser Ltd (A & C Black).
- Doneley, B. (2016). *Avian medicine and surgery practices*. Apple Academic Press, Inc.
- Drews, C. (2002). Attitudes, knowledge and wild animals as pets in Costa Rica. *Anthrozoos*, 15(2). <https://doi.org/10.2752/089279302786992630>
- Engebretson, M. (2006). The welfare and suitability of parrots as companion animals: A review. In *Animal Welfare* (Vol. 15, Issue 3). <https://doi.org/10.1017/s0962728600030475>
- García-Márquez, G. (1967). *Cien Años de Soledad*. Editorial Diana.
- Gómez-Garza, M. Á. (2014). *Loros de México: Historia natural*. (Miguel Ángel Porrúa, Ed.).
- Gómez-Garza, M. Á., Zárate-Ramos, J. J., Guzmán-Velasco, A., Ávalos-Ramírez, R., & Jiménez-Guzmán, F. (2017). *Contribución al estudio de la evolución, ecología y enfermedades de los loros (Psittacidae, Illiger 1811) de México*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- González, J. A. (2003). Harvesting, local trade, and conservation of parrots in the Northeastern Peruvian Amazon. *Biological Conservation*, 114(3). [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(03\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(03)00071-5)

- Guevara-Robles, M., Urcia-Ausejo, F., & Casquero-Cavero, J. (2010). Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. *Medicina & Laboratorio*, 16(7–8), 373–389.
- IUCN. (2023). *The IUCN Red List of Threatened Species*. <https://www.iucnredlist.org>
- Ley General de Vida Silvestre (2021).
- Meza-Madrid, D., Sánchez-Godoy, F., & Morales-Salinas, E. (2019). *Hallazgos patológicos frecuentes en psitácidos en cautiverio nativos de México remitidos al Departamento de Aves de la FMVZ-UNAM del 2006 al 2017*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Miller, R. E., & Fowler, M. E. (2015). *Fowler's Zoo and wild animal medicine*. (Vol. 8). Elsevier-Saunders.
- NOM-059-SEMARNAT-2010, Diario Oficial de la Federación (2010).
- Pires, S. F. (2012). The illegal parrot trade: a literature review. In *Global Crime* (Vol. 13, Issue 3). <https://doi.org/10.1080/17440572.2012.700180>
- Samour, J. (2010). *Medicina Aviaria* (2nd ed.). Elsevier Mosby.
- Sánchez-Godoy, F. (2023). *Enfermedades Infecciosas en Psitácidos-Videoconferencias FMVZ-UNAM* [Video recording]. <https://www.youtube.com/watch?v=MPNzJPcXdM8&t=1554s>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018, September 30). *Importancia de las UMAS*.
- Silva, T. (2018). *Psittaculture: A manual for the care and breeding of parrots*. Mgr. Jan Sojka & Simon Degenhard.
- Stone, E., Montiel-Parra, G., & Pérez, T. (2005). A Survey of Selected Parasitic and Viral Pathogens in Four Species of Mexican Parrots, *Amazona autumnalis*, *Amazona oratrix*, *Amazona viridigenalis*, and *Rhynchopsitta pachyrhyncha*. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 36(2), 245–249.

- Sykes, J. E., Studdert, V. P., Anderson, G., & Browning, G. F. (1997). Comparison of *Chlamydia psittaci* from cats with upper respiratory tract disease by polymerase chain reaction analysis of the ompA gene. *Veterinary Record*, *140*(12). <https://doi.org/10.1136/vr.140.12.310>
- Tella, J. L., & Hiraldo, F. (2014). Illegal and legal parrot trade shows a long-term, cross-cultural preference for the most attractive species increasing their risk of extinction. *PLoS ONE*, *9*(9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107546>
- Tomaszewski, E., Wilson, V. G., Wigle, W. L., & Phalen, D. N. (2001). Detection and heterogeneity of herpesviruses causing Pacheco's disease in parrots. *Journal of Clinical Microbiology*, *39*(2). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.533-538.2001>
- Turrall-Ramírez, M. M., Córdova-Ponce, R., González-Ruíz, C., Castañeda-Aceves, G., Marín-Flamand, E., Garrido-Fariña, G., & Ramírez-Álvarez, H. (2017). First identification of herpesvirus infections among endemic and exotic psittacines in Mexico. *Veterinaria Mexico*, *4*(4). <https://doi.org/10.21753/vmoa.4.4.469>
- Weston, M. K., & Memon, M. a. (2009). The illegal parrot trade in Latin America and its consequences to parrot nutrition, health and conservation. *Bird Populations*, *9* (June).
- Zárate-Ramos, J. J. (2016). *Manual de Parasitología*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia- Universidad Autónoma de Nuevo León.