

CÁSSIA YUMI IKUTA

**Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em
cativeiro**

São Paulo

2015

CÁSSIA YUMI IKUTA

**Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em
cativeiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto

São Paulo
2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3155
FMVZ

Ikuta, Cássia Yumi
Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro / Cássia Yumi
Ikuta. -- 2015.
74 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto.

1. Tuberculose. 2. Micobacteriose. 3. *Mycobacterium* sp. 4. Animais silvestres.
5. Cativeiro. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro", protocolado sob o nº 2352/2011, utilizando amostras biológicas de animais silvestres, sob a responsabilidade do Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, foi aprovado em reunião de 17/8/2011 e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research "Study of mycobacteria in wildlife maintained in captivity", protocol number 2352/2011, utilizing biological samples of wild animals, under the responsibility Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto, was approved in the meeting of day 8/17/2011 and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo.

São Paulo, 22 de maio de 2015.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: IKUTA, Cássia Yumi

Título: Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

Prof. Dr. _____

Instituição _____ Julgamento _____

*Dedico aos meus pais, **Clara e Vicente** (in memoriam),
meu irmão, **Guto**
e ao **Marcelo**,
companheiro de todos
os momentos...
Por todo apoio e paciência.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. José Soares Ferreira Neto**, pela liberdade para aprender e pelo apoio para realizar.

Ao **Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann**, pelo apoio e incentivo.

À **Prof^a. Dr^a. Andrea Micke Moreno**, por abrir as portas de seu laboratório.

Aos professores e funcionários do VPT, **Prof^a. Dr^a. Eliana Reiko Matushima**, **Prof. Dr. José Luiz Catão Dias**, **Prof^a. Dr^a. Lilian Rose Marques de Sá** e **M.V. Dr^a. Marta Brito Guimarães**.

Às instituições colaboradoras, **Aquário de São Paulo**, **Parque Zoológico de São Paulo** e **DEPAVE**.

Aos parceiros de pesquisa, **Prof. Dr. David Driemeier**, **Prof^a. Dr^a. Lilian Gregory**, **Prof^a. Dr^a. Márcia dos Santos Rizzo**, **Prof^a. Dr^a. Nêmera Pauletti Prestes**, **Prof^a. Dr^a. Renata Assis Casagrande**, **M.V. MSc. Ricardo Pinho Gomez Lopez**.

Aos **Professores do VPS**, por minha formação acadêmica e por sempre terem sido solícitos.

Aos **colegas e amigos do LZB**, pelos momentos de descontração.

Aos **funcionários do VPS**, pelo companheirismo e ajuda nos momentos de crise.

“Nobody gets a free ride...
So have your wits about you, and dig in,
and do what you can
because it might not last.”

Ethel Kennedy

RESUMO

IKUTA, C. Y. **Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro**. [Study of mycobacteria in wildlife maintained in captivity]. 2015. 74 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

O gênero *Mycobacterium* compreende inúmeras espécies estudadas por sua capacidade de causar doenças. Surto de tuberculose e micobacteriose em zoológicos, aquários, centros de pesquisa e criadouros evidenciaram a importância desses organismos em relação à saúde de animais silvestres mantidos em cativeiro. Duzentas e onze amostras, de 101 animais entre mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes, foram submetidas à cultura. Foram isolados *M. tuberculosis*, *M. bovis* e 13 espécies de MNT associadas à doença. A natureza crônica dessas doenças, seu diagnóstico *ante mortem* limitado, juntamente com as características de interação social de cada espécie e o confinamento, favorecem a transmissão das micobactérias pelo contato com humanos ou outros animais infectados. Apesar de a presença de *M. tuberculosis* e *M. bovis* em instituições brasileiras já ter sido constatada, o presente estudo descreveu infecções em espécies animais utilizadas para consumo humano, e em espécies conhecidas pela suscetibilidade, mas que ainda não foram documentadas no Brasil. Doença causada por MNT foi relatada, mas sua importância deve ser considerada de acordo com a espécie animal acometida.

Palavras-chave: Tuberculose. Micobacteriose. *Mycobacterium* sp. Animais silvestres. Cativeiro.

ABSTRACT

IKUTA, C. Y. **Study of mycobacteria in wildlife maintained in captivity.** [Estudo de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro]. 2015. 74f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

Mycobacterium genus comprises several species, which have been studied for their capacity to cause diseases. Outbreaks of tuberculosis and mycobacteriosis in zoos, aquariums, research and breeding facilities have shown the importance of these organisms to health of wildlife animal maintained in captivity. Two hundred and eleven samples, from 101 animals among mammal, birds, reptiles, amphibians and fishes, were cultured. *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis* and 13 species of non-tuberculous mycobacteria associated to diseases were isolated. The chronic nature of tuberculosis and mycobacteriosis, their limited ante mortem diagnosis, along with social behavior of each species and confinement, favor mycobacterial transmission through contact with infected humans and other animals. Despite the presence of *M. tuberculosis* and *M. bovis* has already been observed in Brazilian institutions, the present study described infections in animal species destined to human consumption, and species known for their susceptibility, yet not documented in Brazil. Disease caused by non-tuberculous mycobacteria was reported, though its importance must be considered according to the animal species affected.

Keywords: Tuberculosis. Micobacteriosis. *Mycobacterium* sp. Wildlife. Captivity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Tipos de amostras recebidas de mamíferos silvestres	22
Quadro 2 – Tipos de amostras recebidas de aves silvestres.....	24
Quadro 3 – Tipos de amostras recebidas de répteis	25
Quadro 4 – Tipos de amostras recebidas de anfíbios	26
Quadro 5 – Tipos de amostras recebidas de peixes.....	27
Quadro 6 – Valores do tamanho dos produtos amplificados, <i>primers</i> usados e genes alvos, de acordo com a identificação do agente.....	31
Quadro 7 – Valores do tamanho dos produtos amplificados, <i>primers</i> usados de acordo com ausência e presença da região, e identificação do agente	33
Quadro 8 – Isolados de <i>Mycobacterium</i> spp. em mamíferos silvestres.....	35
Quadro 9 – Isolados de <i>Mycobacterium</i> spp. em aves silvestres	46
Quadro 10 – Isolados de <i>Mycobacterium</i> spp. em répteis.....	48
Quadro 11 – Isolados de <i>Mycobacterium</i> spp. em anfíbios	50
Quadro 12 – Isolados de <i>Mycobacterium</i> spp. em peixes	52

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
3	OBJETIVOS	20
4	MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1	INSTITUIÇÕES	21
4.2	AMOSTRAS	21
4.3	FLUXOGRAMA	28
4.4	ISOLAMENTO	29
4.5	IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR	29
4.5.1	Extração e purificação de DNA	29
4.5.2	Reação em cadeia pela polimease (PCR)	30
4.5.2.1	TB PCR Multiplex	30
4.5.2.2	RD PCR Multiplex	31
4.5.2.3	PCR com análise de restrição enzimática (PRA)	33
4.5.3	Eletroforese	34
4.6	TIPIFICAÇÃO MOLECULAR	34
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÃO	54
	REFERÊNCIAS	55

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Mycobacterium* compreende 172 espécies reconhecidas (EUZÉBY, 1997; EUZÉBY, 2015) que ao longo da história foram subdivididas em diversos grupos e espécies individuais, de acordo com características fenotípicas e genotípicas (RASTOGI; LEGRAND; SOLA, 2001; SCHRENZEL, 2012), e estudadas principalmente por sua capacidade de causar doenças, tuberculose (TB) e micobacteriose.

Desde o primeiro relato documentado de TB em um chimpanzé no Zoológico de Londres, em 1836 (OWEN¹, apud MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001, p. 291), as infecções por micobactérias têm sido observadas e estudadas em animais silvestres mantidos em cativeiro para melhor compreensão, não apenas da suscetibilidade das diferentes espécies animais, mas também das fontes de infecção e transmissão de um indivíduo a outro (GRIFFITH, 1928; SCHRENZEL, 2012).

Todas as ordens de mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes, quando mantidas em cativeiro ou domesticação, estão sujeitas a infecções por micobactérias (LOVELL, 1930; HAMERTON, 1935; DAHLHAUSEN; SOLERTOVAR; SAGGESE, 2012; MARTINHO; HEATLEY, 2012; SCHRENZEL, 2012; WALTZEK et al., 2012; ROUTH, 2013).

As infecções por micobactérias, principalmente pelas espécies causadoras da TB, ganharam destaque devido à ocorrência de surtos em instituições que mantêm animais em cativeiro (MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013).

Parques zoológicos, aquários e centros de pesquisa e de reabilitação têm alto risco de transmissão entre animais e de exposição dos animais aos patógenos humanos, pois o espaço é delimitado e a há maior proximidade com humanos, sejam tratadores, público visitante ou proprietários (GARCIA et al., 2004; LEWERIN et al., 2005; TWOMEY et a., 2010; FREMONT-RAHL et al., 2011; MURAKAMI et al., 2012a; MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013).

¹ OWEN, R. On the morbid appearance observed in the dissection of a chimpanzee (*Simia troglodytes*). In: PROCEEDINGS OF THE ZOOLOGICAL SOCIETY OF LONDON. London: Longmans Greens, 1836. p. 41

Em instituições brasileiras, já foram relatados infecções causadas por micobactérias. Entre elas, estão *M. marinum* em colônia de rã-touro (FERREIRA et al., 2006), *M. kansasii* em coati (*Nasua nasua*) (ROCHA et al., 2011b), *M. bovis* em waterbuck (*Kobus ellipsiprymnus*) (ROCHA et al., 2011a) e coati (MURAKAMI et al., 2012a), e *M. tuberculosis* em macaco-aranha-de-cara-vermelha (*Ateles paniscus*) (ROCHA et al., 2013) e em anta (*Tapirus terrestris*) (MURAKAMI et al., 2012a)

Saúde animal e saúde pública são interdependentes (MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013). A importância no controle e erradicação dessas doenças é evidenciada pela morbidade e mortalidade que causam em animais e humanos, representando grandes desafios para a saúde humana e animal, economia e conservação de espécies silvestres.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As espécies pertencentes ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT) são patógenos obrigatórios, ou seja, necessitam de hospedeiro, e são causadoras da tuberculose (TB), uma das doenças mais importantes entre as diversas zoonoses existentes (UNE; MORI, 2007; LÉCU; BALL, 2011). Entre os membros do CMT, encontram-se *Mycobacterium tuberculosis*, *M. bovis*, *M. caprae*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. pinnipedii* e “*M. canettii*” (UNE; MORI, 2007); e mais recentemente foram descritas “*M. orygis*” e “*M. mungi*” (RODRIGUEZ-CAMPOS et al., 2014).

As espécies de micobactérias que não pertencem ao CMT, e que não seja *M. leprae*, são conhecidas como micobactérias não tuberculosas (MNT) ou micobactérias atípicas (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004). Uma característica importante dessas espécies é que podem ser encontradas no ambiente, como solo (LÉCU; BALL, 2011), água do mar (SOMOSKOVI; SALFINGER, 2014) e fontes de água doce, tanto naturais quanto feitas pelo homem (HALE, 2000; SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004).

As MNT formam um grupo variado de organismos com amplo espectro de virulência e potencial para causar doença, denominada micobacteriose (LÉCU; BALL, 2011). Baseado nesses dois fatores, essas espécies podem ser classificadas como: saprófitas, que nunca ou muito raramente causam doenças (SOMOSKOVI; SALFINGER, 2014); oportunistas, adaptadas a viver no meio ambiente mas que podem, em algumas ocasiões, infectar hospedeiros humanos e animais e causar micobacteriose (SCHRENZEL, 2012), como *M. fortuitum* e *M. scrofulaceum* (BERCOVIER; VINCENT, 2001); e patógenos primários, que podem se manter viáveis por períodos variados no ambiente mas necessitam de hospedeiros para sobreviver, por exemplo *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (SCHRENZEL, 2012).

A distinção entre patógenos primários e oportunistas é muito tênue quanto ao papel do ambiente na transmissão, já que este pode ser uma fonte, na qual

os organismos estão viáveis em estado inerte, ou um reservatório, em que as micobactérias vivem e se multiplicam (SCHRENZEL, 2012). Esta é a situação de espécies como *M. avium* subsp. *avium*, *M. ulcerans* e *M. marinum* (SCHRENZEL, 2012).

Enquanto a maioria dos microrganismos do CMT tem a habilidade de infectar espécies taxonomicamente distantes (LÉCU; BALL, 2011), a grande diversidade de MNT no ambiente, ao qual qualquer indivíduo está sujeito, permite maior probabilidade de infecção (SOMOSKOVI; SALFINGER, 2014). Animais aquáticos tendem a ter maior exposição às MNT, as quais já foram isoladas a partir de amostras de água doce, do mar, de esgoto e potável (HALL-STOODLEY; KEEVIL; LAPPIN-SCOTT, 1998).

Há uma grande variação de suscetibilidade, patogenia e resposta imune, diante da infecção, entre as espécies de micobactérias e as dos animais hospedeiros (LÉCU; BALL, 2011), entretanto, TB e micobacteriose têm sido relatadas em inúmeras espécies de animais silvestres de vida livre e mantidas em cativeiro (GRIFFITH, 1928; LOVELL, 1930; HAMERTON, 1935; DE LISLE; MACKINTOSH; BENGIS, 2001; MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001; ARTOIS et al., 2011; LÉCU; BALL, 2011; ROCHA et al., 2011a,b; SCHRENZEL, 2012; WALTZEK et al., 2012; ROCHA et al., 2013; ROUTH, 2013).

Em geral, as infecções causadas pelas micobactérias, tanto do CMT quanto as MNT, resultam em doenças granulomatosas crônicas, que podem estar associadas às linfadenopatias (BERCOVIER; VINCENT, 2001), mas o curso da doença e a evolução do quadro, para ativa ou latente, variam de acordo com as espécies dos hospedeiros, a dose infectante e a via de transmissão (LÉCU; BALL, 2011; ROUTH, 2013).

A resposta imune, dependente de fatores genéticos e condições físicas do hospedeiro (SCHLUGER, 2005), vai determinar se haverá erradicação das micobactérias, formação de granuloma, que representa a fase específica de latência, ou replicação intracelular ativa com progressão da doença (SCHLUGER, 2005; SAKAMOTO, 2012). Muitas vezes o indivíduo infectado atua como multiplicador do organismo (ROUTH, 2013).

As vias de transmissão estão associadas à localização dos granulomas. Lesões pulmonares geralmente têm transmissão por aerossóis, enquanto lesões de linfonodos mesentéricos são adquiridas por via digestiva e podem levar à eliminação de micobactérias pelo intestino (LÉCU; BALL, 2011). A transmissão pelo contato com fluidos ou tecidos também é possível (BURGOS-RODRIGUEZ, 2011).

Tuberculose (TB) tem caráter progressivo e é primariamente doença pulmonar (COUSINS; FLORISSON, 2005; MIKOTA; MASLOW, 2011), mas pode evoluir para generalizada (ALFONSO et al., 2004; OEVERMANN et al., 2004). Na micobacteriose, podem ocorrer lesões de pele, com úlceras e/ou nódulos (BERCOVIER; VINCENT, 2001), enteropatias agudas ou crônicas, infecções pulmonares, e doenças assintomáticas ou generalizadas (JACKSON et al., 1989; BRAMMER et al., 1995; ALFONSO et al., 2004; MICHAEL; SANGSTER, 2010; MÜSTER et al., 2012; ROUTH, 2013).

Entre as manifestações clínicas, podem-se apresentar apenas sinais discretos, como leves alterações comportamentais, seguidos de anorexia e letargia (MITCHELL, 2012; WALTZEK et al., 2012; WERNERY; KINNE, 2012; ROUTH, 2013), ou então morte súbita em condições aparentemente boas (ALFONSO et al., 2004; LENNOX, 2007; WERNERY; KINNE, 2012).

Outros possíveis sinais são tosse, secreções nasais, intolerância a exercícios (MIKOTA; MASLOW, 2011), baixo crescimento (ROUTH, 2013), perda de peso (PATE et al., 2006; LENNOX, 2007; ROUTH, 2013), pneumonia supurativa, pielonefrite (UNE; MORI, 2007), diarreia, supuração de linfonodos, úlceras cutâneas, esplenomegalia e hepatomegalia (ALFONSO et al., 2004; EBANI et al., 2012; ROUTH, 2013). Quanto a alterações externas, é possível observar alteração de cor, elevação e perda de escamas, em peixes (TORANZO; MAGARIÑOS; ROMALDE, 2005; REAVILL; SCHMIDT, 2012), e crescimento pobre e perda de plumagem, em aves (DAHLHAUSEN; SOLERTOVAR; SAGGESE, 2012).

A natureza insidiosa desses organismos permite que se espalhem silenciosamente entre os animais em cativeiro (DE LISLE; MACKINTOSH; BENGIS, 2001; MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001; ALFONSO et al., 2004; UNE; MORI, 2007), multiplicando fontes de infecção em potencial (LÉCU; BALL,

2011). Além disso, as condições sob as quais esses animais são mantidos favorecem a transmissão e, dependendo das circunstâncias em que ocorre a disseminação, a infecção pode assumir o caráter de epidemia (GRIFFITH, 1928; HIMSWORTH et al., 2010; MURAKAMI et al., 2012b; HARIDY et al., 2014a).

O diagnóstico precoce é intrínseco ao controle da micobacteriose e à erradicação da TB, porém, sua cronicidade e forma latente são pontos críticos aos métodos existentes (MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001; ALFONSO et al., 2004; LÉCU; BALL, 2011). Os sinais clínicos são raramente vistos antes da morte do animal, e quando observados a doença já está avançada e em estágio irreversível (LÉCU; BALL, 2011; MITCHELL, 2012; ROUTH, 2013).

Os testes de diagnóstico indireto foram desenvolvidos com foco na TB, causada principalmente por *M. bovis* e *M. tuberculosis*, por haver maior preocupação quanto ao impacto da relação entre humanos, animais domésticos e animais silvestres, envolvendo saúde pública, perdas econômicas e bem estar animal em grande escala (MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013).

Baseado nas reações imunomediadas por células, o teste tuberculínico é muito utilizado, mas por se tratar de uma avaliação intradérmica *in vivo* que depende de resposta inflamatória, apresenta diversas desvantagens: tempo necessário para leitura e entre retestes; resultados falso-negativos por condições individuais, como má-nutrição, interferência medicamentosa, imunossupressão e anergia; resultados falso-positivos por reações exacerbadas, co-infecção ou infecção por NMT ou exposição às mesmas; e discrepância na qualidade do antígeno produzido no mundo (SOAVE; JACKSON; GHUMMAN; 1981; VERVENNE et al., 2004; LÉCU; BALL, 2011).

Sua aplicação nos animais silvestres também encontra dificuldades devido à variação de estruturas tegumentares e dérmicas, falta de compreensão de imunofisiologia e temperaturas superficiais diferentes entre todas as espécies (LÉCU; BALL, 2011; MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013). Contudo, para alguns animais como primatas (BUSHMITZ et al., 2009), a interpretação de resultado está bem estabelecida (LÉCU; BALL, 2011).

A avaliação de interferon- γ (IFN- γ), uma das citocinas mais associadas às infecções micobacterianas (CHAMBERS, 2009), é uma alternativa *in vitro* ao teste tuberculínico que utiliza sangue total ou células mononucleares de sangue

periférico (MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013). Entretanto, além de apresentar as mesmas desvantagens do teste tuberculínico quanto ao indivíduo, é necessário que as células sejam mantidas vivas até chegar ao laboratório (LÉCU; BALL, 2011).

Foram desenvolvidos kits comerciais para teste de IFN- γ voltados para bovinos (BOVIGAM®, Prionics), primatas (PRIMAGAM®, Prionics) e cervídeos (CERVIGAM®, Prionics), mas o último não é mais produzido (LÉCU; BALL, 2011).

Os testes sorológicos ainda necessitam de mais estudos pela gama de antígenos existentes entre tantas espécies de micobactérias e sua relação com o hospedeiro. A presença de infecções por MNT e o curso de longo prazo da doença, incluindo os períodos de infecção latente, interferem no perfil sorológico dos animais (LÉCU; BALL, 2011). Existem testes comerciais validados para elefantes (ElephantTB STATPAK®, Chembio) e primatas (PrimaTB STATPAK®, Chembio) (LÉCU; BALL, 2011).

As técnicas de diagnóstico por imagem, como radiografia, ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética, têm uso restrito pela conformação e peso dos animais, pela existência de lesões calcificadas e pela necessidade de contenção química (LÉCU; BALL, 2011).

O diagnóstico definitivo é feito através de métodos diretos, ou seja, isolamento e identificação do agente. A baciloscopia, baseada na coloração do organismo, permite a observação de bacilos álcool-ácido resistente (BAAR), mas é limitada pela quantidade de bacilos presentes e por outras bactérias que compartilham a mesma característica tintorial, como *Nocardia* spp. (LÉCU; BALL, 2011; ROUTH, 2013).

A cultura ainda é o padrão-ouro desses métodos, mesmo com seu intervalo de crescimento longo, variando de três dias a três meses de acordo com a espécie de micobactéria (LÉCU; BALL, 2011; DAHLHAUSEN; SOLERTOVAR; SAGGESE, 2012; MARTINHO; HEATLEY, 2012; MITCHELL, 2012; ROUTH, 2013).

Na maior parte dos casos, o isolamento em cultura é realizado em exames *post mortem*, a partir de lesões observadas em necropsia ou inspeção em abatedouro de carne exótica. Amostras de lavados traqueobrônquico e gástrico, material de biópsia, urina, fezes e sangue também podem ser

utilizadas, porém, a sensibilidade do cultivo vai depender, entre outros fatores, do tipo de infecção, latente ou ativa, no momento da coleta *in vivo* (REAVILL; SCHMIDT, 2012; MAAS; MICHEL; RUTTEN, 2013).

As técnicas de biologia molecular têm vantagem no tempo de diagnóstico, mas há perda na sensibilidade quando são aplicadas diretamente na amostra biológica pela presença de inibidores, podendo resultar em falso negativo (LÉCU; BALL, 2011; WILBUR et al., 2012).

Técnicas de genotipagem permitem a diferenciação de cepas e o rastreamento epidemiológico da infecção, e podem ser muito úteis na identificação de cepas que circulam entre os animais em cativeiro (LEWERIN et al., 2005; LÉCU; BALL, 2011)

As técnicas de diagnóstico disponíveis não são confiáveis como ferramentas únicas, mas quando usadas em conjunto dentro de um plano de vigilância em longo prazo, auxiliam na redução do risco de manter ou importar animais infectados, mesmo com os longos períodos de incubação e de latência das micobactérias.

3 OBJETIVOS

- Verificar a exposição de micobactérias em animais silvestres mantidos em cativeiro em diversas instituições no Brasil;
 - Isolar e identificar as micobactérias;
 - Tipificar os isolados de *Mycobacterium* spp. por técnicas de biologia molecular;
- Incentivar sua pesquisa através de parcerias.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 INSTITUIÇÕES

Cartas foram enviadas a diversas Instituições brasileiras que mantêm animais em cativeiro, incluindo zoológicos e aquários, convidando-as a participar do projeto através do envio de amostras de animais suspeitos de tuberculose ou micobacterioses.

4.2 AMOSTRAS

Entre Janeiro de 2011 e Fevereiro de 2015, foram recebidas 211 amostras de lesões granulomatosas obtidas em necropsia, lavados traqueobrônquico e gástrico, material de biópsia, urina, fezes, sangue e secreções purulentas, provenientes de animais silvestres mantidos em cativeiro em Instituições brasileiras e em propriedades particulares, como animais de estimação.

Os tipos de amostras recebidas e as espécies de animais silvestres envolvidas são apresentados nos quadros 1, 2, 3, 4 e 5, de acordo com as classes.

Quadro 1 – Tipos de amostras recebidas de mamíferos silvestres

Classe Mammalia	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Artiodactyla			
Família Bovidae			
grande-kudu (<i>Tragelaphus strepsiceros</i>)	2	3	pulmão e linfonodo
waterbuck (<i>Kobus ellipsiprymnus</i>)	1	2	nódulos pulmonar e hepático
Família Camelidae			
camelo (<i>Camelus bactrianus</i>)	1	1	granuloma hepático
lhama (<i>Lama glama</i>)	2	2	fragmento pulmonar
Família Cervidae			
cervo-dama (<i>Dama dama</i>)	5	11	pulmão, linfonodo, intestino, e nódulos pulmonar, hepático e intestinal
Família Hippopotamidae			
hipopótamo (<i>Hippopotamus amphibius</i>)	1	1	massa em joelho
Ordem Carnivora			
Família Mustelidae			
lontra (<i>Lontra longicaudis</i>)	1	1	nódulo subcutâneo
Ordem Diprotodontia			
Família Macropodidae			
canguru wallaby (<i>Macropus rufogriseus</i>)	3	6	baço, nódulo caseoso intestinal, swab de abscesso dentário, pulmão e abscesso pulmonar
Ordem Perissodactyla			
Família Tapiridae			
anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	2	3	fígado, linfonodo mesentérico e lavado brônquico
Ordem Primates			
Família Atelidae			
bugio (<i>Alouatta guariba</i>)	2	5	material caseoso, nódulos
Família Hominidae			
chimpanzé (<i>Pan troglodytes</i>)	2	3	pulmão, linfonodo e lavado traqueobrônquico
Família Pitheciidae			
parauacu-branco (<i>Pithecia albicans</i>)	1	1	fragmento de pele
Família Cebidae			
macaco-prego (<i>Cebus apella</i>)	21	43	lavado traqueobrônquico, conteúdo de abscesso pulmonar, swab de cavidade oral, pulmão, intestino, fezes, sangue

(conclusão)

Classe Mammalia	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Proboscidea			
Família Elephantidae			
elefante-asiático (<i>Elephas maximus</i>)	1	2	granuloma linfático e pulmonar
Ordem Rodentia			
Família Caviidae			
capivara (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>)	1	1	granuloma pulmonar
Família Erethizontidae			
ouriço (<i>Sphiggurus villosus</i>)	1	1	nódulo subcutâneo
Família Myocastoridae			
ratão-do-banhado (<i>Myocastor coypus</i>)	1	1	swab de pele
Ordem Sirenia			
Família Trichechidae			
peixe-boi-da-Amazônia (<i>Trichechus inunguis</i>)	1	28	swab e fragmento de lesão, e ambiente

Quadro 2 – Tipos de amostras recebidas de aves silvestres

Classe Aves	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Anseriformes			
Família Anatidae			
cisne-negro (<i>Cygnus atratus</i>)	2	2	saco aéreo e nódulo hepático
pato-corredor (<i>Neochen jubata</i>)	1	1	alça intestinal
Ordem Passeriformes			
Família Fringillidae			
canário belga (<i>Serinus canarius</i>)	1	1	fragmento pulmonar
Família Icteridae			
pássaro-preto (<i>Gnorimopsar chopi</i>)	1	4	pulmão, cáseo em coração, intestino e fezes
Família Cotingidae			
pavó (<i>Pyroderus scutatus</i>)	1	1	líquido em saco aéreo
Ordem Piciformes			
Família Ramphastidae			
tucano-de-bico-verde (<i>Ramphastos dicolorus</i>)	1	1	swab de cloaca
Ordem Procellariiformes			
Família Procellariidae			
pardela-de-óculos (<i>Procellaria conspicillata</i>)	1	3	pulmão, rim, fígado
Ordem Psittaciformes			
Família Psittacidae			
calopsita (<i>Nymphicus hollandicus</i>)	1	1	swab de cloaca
papagaio-charão (<i>Amazona pretrei</i>)	3	7	músculo, pulmão, fígado e intestino
papagaio-do-congo (<i>Psittacus erithacus</i>)	1	2	pele e fragmento de lesão em pele
papagaio-do-mangue (<i>Amazona amazonica</i>)	1	1	granuloma de língua
papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>)	5	9	fragmento hepático e nódulo

Quadro 3 – Tipos de amostras recebidas de répteis

Classe Reptilia	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Testudines			
Família Chelidae			
cágado-listrado (<i>Phrynops geoffroanus</i>)	1	1	cáseo hepático
Família Testudinidae			
jabuti (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	3	3	cáseo subcutâneo, lesão de pele e nódulos hepáticos
Ordem Squamata			
Família Amphisbaenidae			
cobra-de-duas-cabeças (<i>Amphisbaena alba</i>)	1	2	abscessos subcutâneos
Família Colubridae			
cobra-verde (<i>Philodryas olfersii</i>)	1	2	swab e cáseo em cavidade oral
Família Iguanidae			
iguana (<i>Iguana iguana</i>)	1	1	fígado
Família Boidae			
jiboia (<i>Boa constrictor</i>)	1	4	swab de traqueia, pulmão, baço, fígado
pítton-carpete (<i>Morelia spilota</i>)	1	2	fragmento e secreção pulmonares
suaçubóia (<i>Corallus hortulanus</i>)	1	1	rim
Ordem Crocodylia			
Família Crocodylidae			
jacaré-do-papo-amarelo (<i>Caiman latirostris</i>)	1	1	pulmão

Quadro 4 – Tipos de amostras recebidas de anfíbios

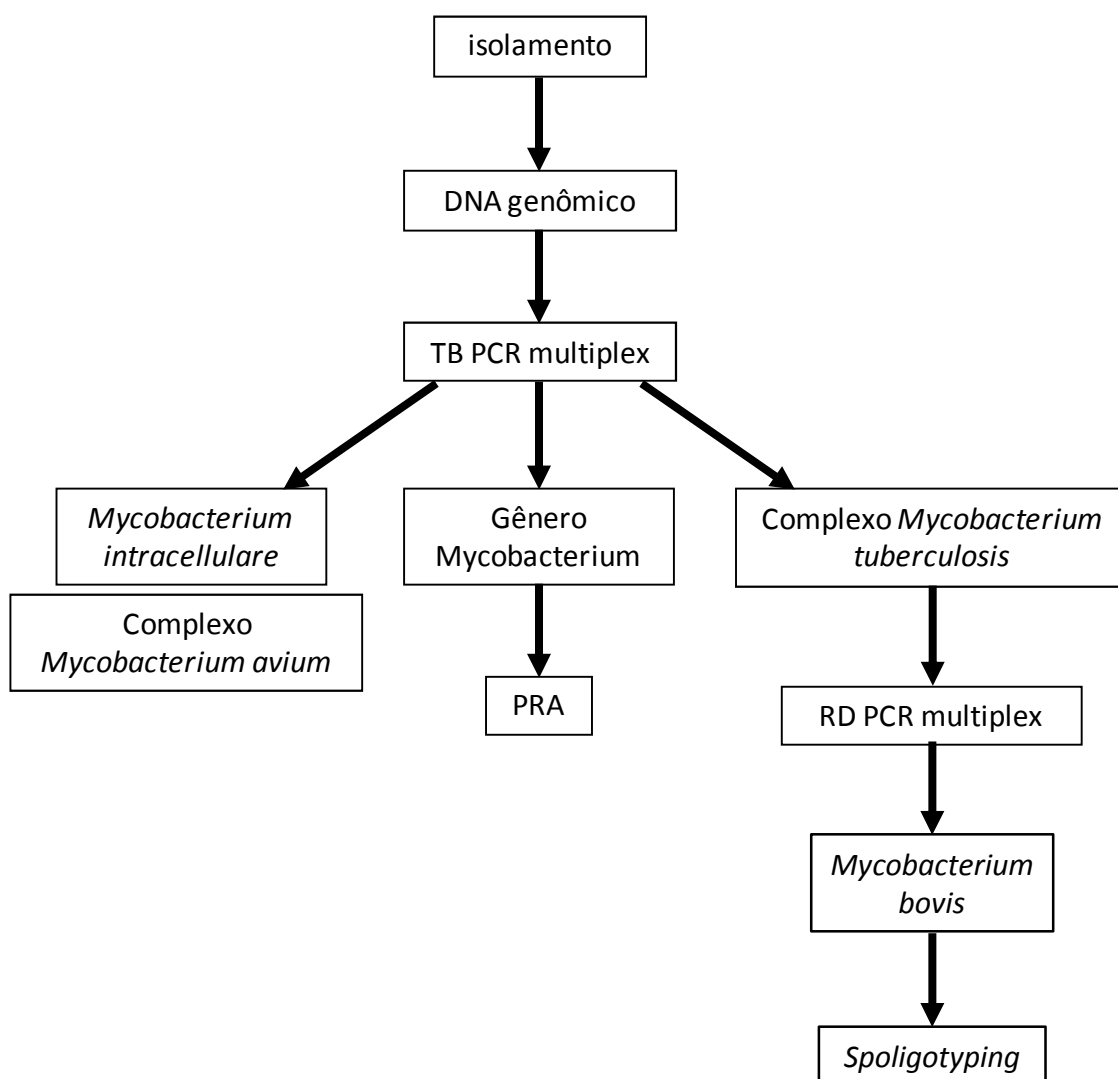
Classe Amphibia	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Anura			
Família Microhylidae			
rã-bicuda (<i>Dermatonotus muelleri</i>)	3	8	swab e fragmento de lesão de pele, swab de pele e ambiente
Família Bombinatoridae			
rã-bombina (<i>Bombina orientalis</i>)	1	2	pele e víceras
Família Ranidae			
rã-touro (<i>Lithobates catesbeianus</i>)	3	3	raspado de pele, swab de líquido da cavidade celomática e swab de lesão cutânea
Família Bufonidae			
sapo-cururu (<i>Rhinella schneideri</i>)	1	3	secreção de lesão em pele e glândula de veneno
Família Hylidae			
sapo-martelo (<i>Hypsiboas faber</i>)	1	1	pulmão, traqueia

Quadro 5 – Tipos de amostras recebidas de peixes

Subclasse Actinopterygii	nº indivíduos	nº amostras	tipo de amostra
Ordem Characiformes			
Família Serrasalminidae			
tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	1	5	fígado, nódulos, músculo, baço e swab de pele
Ordem Cypriniformes			
Família Cyprinidae			
kinguio (<i>Carassius auratus</i>)	1	1	nódulos
Ordem Osteoglossiformes			
Família Arapaimidae			
pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>)	1	3	fígado, estômago e salina de acondicionamento
Ordem Perciformes			
Família Cichlidae			
tucunaré (<i>Cichla</i> spp.)	3	3	lesões, pool de tecidos
peixe-oscar (<i>Astronotus</i> spp.)	2	4	fígado, rim, pele, grânulos
Família Zanclidae			
zanclus (<i>Zanclus cornutus</i>)	1	1	víceras
Família Apogonidae			
cardinal bangai (<i>Pterapogon kauderni</i>)	1	2	granuloma
Ordem Siluriformes			
Família Pimelodidae			
pirarara (<i>Phractocephalus hemiliopterus</i>)	2	8	swab de lesão e órgãos
Ordem Syngnathiformes			
Família Syngnathidae			
cavalo-marinho (<i>Hippocampus</i> sp.)	1	2	debris de pele e víceras

4.3 FLUXOGRAMA

Para melhor compreensão da sequência de procedimentos, segue um fluxograma:



4.4 ISOLAMENTO

As amostras foram submetidas ao processo de descontaminação com cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 1,5%, adaptado de Corner e Trajstman (1988) e Ambrosio et al. (2008) e semeadas nos meios Stonebrink e Löwenstein-Jensen (CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS, 1985). E em seguida, foram incubadas a 37°C para amostras oriundas de mamíferos; a 37°C e 25°C, para as de anfíbios, répteis e peixes; e a 37°C e 43°C, para as de aves, durante 90 dias.

4.5 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

As colônias com morfologia e características compatíveis a micobactérias foram submetidas a métodos moleculares para identificação, incluindo reações em cadeia pela polimerase (PCR) com análise de restrição enzimática e multiplex, descritos a seguir.

4.5.1 **Extração e purificação de DNA**

A extração e purificação de DNA foi realizada de acordo com uma adaptação dos protocolos de van Soolingen et al. (1994) e Bemmer-Melchior e Drugeon (1999). Uma alçada da massa bacteriana foi retirada do meio de cultura e transferida para um microtubo de 1,5 mL com 400 µL de tampão TE (10mM Tris-HCl e 1mM EDTA pH 8,0), o qual foi agitado e incubado a 100°C por 5 min para inativação. Em seguida, foi adicionado 50 µL de lisozima (10 mg/mL) e incubado a 37°C por 18 h. Após esse período, foram adicionados 5 µL de

proteínase K (10 mg/mL) e 70 µL de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 10%. O microtubo foi agitado e incubado a 65°C por 10 min. Foram adicionados 100 µL de NaCl a 5M e 100µL de solução de brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB)/NaCl pré-aquecida a 65°C, seguido de agitação e incubação a 65°C por 10 min. Após a adição de 750 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), o microtubo foi agitado e centrifugado a 12.000G por 10 min, e 600 µL do sobrenadante foi transferido para um novo microtubo, ao qual foram adicionados 600 µL de isopropanol (2-propanol).

A amostra foi mantida a -20°C por 30 min e centrifugada a 12.000G por 15 min. O sobrenadante foi desprezado e foram adicionados 1000 µL de etanol 70% gelado, seguido de centrifugação a 12.000G por 5 min. Mais uma vez o sobrenadante foi desprezado e, após a secagem do microtubo a 56°C por 10 min, o DNA foi ressuspendido com 50 µL de tampão TE e armazenado a -20°C. Em todo procedimento de extração e purificação, foram adicionados um controle negativo a cada três amostras e um controle positivo.

4.5.2 Reação em cadeia pela polimease (PCR)

Em todas as reações para amplificação do DNA extraído, foram utilizados 1,25U de *Taq* DNA polimerase, 50mM KCl, 10mM Tris-HCl (pH 8,3), 50mM MgCl₂, 1,25mM de cada desoxirribonucleotídeo trifosfato e água ultrapura para um volume final de 25 µL.

4.5.2.1 TB PCR Multiplex

O protocolo descrito por Wilton e Cousins (1992) foi utilizado para diferenciar CMT, complexo *M. avium*, *M. intracellulare* e *Mycobacterium* spp. em uma única reação, por meio de *primers* com diferentes alvos e tamanhos de produtos, apresentados no quadro 6.

Quadro 6 – Valores do tamanho dos produtos amplificados, *primers* usados e genes alvos, de acordo com a identificação do agente.

identificação	produtos amplificados (pb)	pares de <i>primers</i>	gene alvo
<i>Mycobacterium</i> spp.	1030	MYCGEN-F/ MYCGEN-R	16S rRNA
<i>M. intracellulare</i>	1030 e 850	MYCINT-F/ MYCGEN-R	16S rRNA
CMT	1030 e 372	TB1-F/ TB1-R	mpb70
MAC	1030 e 180	MYCAV-R/MYCGEN-F	16S rRNA

Fonte: (WILTON; COUSINS, 1992).

São usados 10 pmoles de cada *primer*, MYCGEN-F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), MYCGEN-R (5'-TGCACACAGGCCACAAGGGA-3'), MYCAV-R (5'-ACCAGAAGACATGCGTCTTG-3'), MYCINT-F (5'-CCTTTAGGCGCATGTCTTTA-3'), TB1-F (5'-GAACAATCCGGAGTTGACAA-3') e TB1-R (5'-AGCACGCTGTCAATCATGTA-3'), e 2,5 µL da amostra de DNA. O termociclador foi programado para um ciclo a 94°C por 10 min, 35 ciclos a 94°C por 30 s, 61°C por 2 min e 72°C por 3 min, e um ciclo final a 72°C por 10 min. A cada amplificação foram adicionados três controles positivos, *M. bovis* estirpe AN5, complexo *M. avium* e *M. intracellulare*, e um controle negativo a cada três amostras.

4.5.2.2 RD PCR Multiplex

O protocolo descrito por Warren et al. (2006), baseado em regiões genômicas deletadas, foi utilizado para identificar as espécies dentro do CMT. Foram realizadas três reações distintas, cada uma com seis *primers* a 50 pmoles, e 2 µL da amostra de DNA. O termociclador foi programado para um ciclo a 95°C por 15 min, 35 ciclos a 94°C por 1 min, 62°C por 1 min e 72°C por 1 min, e um ciclo final a 72°C por 10 min.

A primeira reação, RD1/RD4, diferencia *M. bovis*, *M. bovis* BCG e as outras espécies pelos *primers* RD1-1 (5'-AAGCGGTTGCCGCCGACCGACC-3'), RD1-2 (5'-CTGGCTATATTCCTGGGCCCGG-3'), RD1-3 (5'-GAGGCGATCTGGCGGTTTGGGG-3'), RD4-1 (5'-

ATGTGCGAGCTGAGCGATG-3'), RD4-2 (5'-TGTACTATGCTGACCCATGCG-3') e RD4-3 (5'-AAAGGAGCACCATCGTCCAC-3'). Foram adicionados três controles positivos, *M. tuberculosis* estirpe H37Rv, *M. bovis* estirpe AN5 e *M. bovis* BCG, e um controle negativo a cada três amostras.

A segunda reação, RD9/RD12, diferencia *M. bovis* e *M. caprae*, *M. tuberculosis* e *M. africanum* subtipo II, e as outras espécies utilizando os *primers* RD9-1 (5'-CAAGTTGCCGTTTCGAGCC-3'), RD9-2 (5'-CAATGTTTGTGCGCTGC-3'), RD9-3 (5'-GCTACCCTCGACCAAGTGTT-3'), RD12-1 (5'-GGGAGCCCAGCATTTACCTC-3'), RD12-2 (5'-GTGTTGCGGGAATTACTCGG-3') e RD12-3 (5'-AGCAGGAGCGGTTGGATATTC-3'). Foram adicionados dois controles positivos, *M. tuberculosis* estirpe H37Rv e *M. bovis* estirpe AN5, e um controle negativo a cada três amostras.

A terceira reação, RD1^{mic}/RD2^{seal}, diferencia *M. microti*, *M. pinnipedii* e as outras espécies utilizando os *primers* RD1^{mic}-1 (5'-CGGTTTCGTCGCTGTTCAAAC-3'), RD1^{mic}-2 (5'-CGCGTATCGGAGACGTATTTG-3'), RD1^{mic}-3 (5'-CAATCAGCCAAGACGAGGTTG-3'), RD2^{seal}-1 (5'-TCAGCGGTCTCATAGCATTGC-3'), RD2^{seal}-2 (5'-CGGGTTGGGAATGTCAGAAAC-3') e RD2^{seal}-3 (5'-GCGGCAAGGTACGTCAGAAC-3'). Foram adicionados um controle positivo, *M. bovis* estirpe AN5, e um controle negativo a cada três amostras.

Os resultados de acordo com o tamanho dos produtos são apresentados no quadro 7.

Quadro 7 – Valores do tamanho dos produtos amplificados, *primers* usados de acordo com ausência e presença da região, e identificação do agente

espécie	RD1	RD4	RD9	RD12	RD1 ^{mic}	RD2 ^{seal}
<i>M. bovis</i> BCG	196bp	268bp	108bp	306bp	195bp	296bp
<i>M. bovis</i>	146bp	268bp	108bp	306bp	195bp	296bp
<i>M. tuberculosis</i>	146bp	172bp	235bp	369bp	195bp	296bp
<i>M. africanum</i> II	146bp	172bp	235bp	369bp	195bp	296bp
<i>M. africanum</i> I	146bp	172bp	108bp	369bp	195bp	296/168bp
<i>M. caprae</i>	146bp	172bp	108bp	306bp	-----	-----
" <i>M. canettii</i> "	146bp	172bp	235bp	-----	-----	-----
<i>M. pinnipedii</i>	146bp	172bp	108bp	369bp	195bp	168bp
<i>M. microti</i>	146bp	172bp	108bp	369bp	127bp	296bp

-----: não há.

Fonte: (WARREN et al., 2006; HUARD et al., 2003; HUARD et al., 2006)

4.5.2.3 PCR com análise de restrição enzimática (PRA)

Uma adaptação do protocolo descrito por Telenti et al. (1993) foi utilizada para identificar as micobactérias não tuberculosas. Em cada reação foram usados 10 pmoles de cada *primers*, Tb11 (5'-ACCAACGATGGTGTGTCCAT-3') e Tb12 (5'-CTTGTCGAACCGCATACCCT-3'), os quais tem o gene da proteína de choque térmico 65 (*hsp65*) como alvo e resultam em um produto de 441 pares de base, e 2,5 µL da amostra de DNA. O termociclador foi programado para um ciclo a 94°C por 10 min, 35 ciclos a 94°C por 1 min, 60°C por 1 min e 72°C por 1 min, e um ciclo final a 72°C por 10 min. O produto amplificado foi adicionado a duas reações enzimáticas distintas com as enzimas *BstEII* (Promega, WI, USA) e *HaeIII* (Invitrogen™, CA, USA), de acordo com as instruções do fabricante. A interpretação do padrão de bandas foi realizada através do site: www.app.chuv.ch/prasite.

4.5.3 Eletroforese

A visualização foi realizada pela eletroforese em gel de agarose a 1,5% para o produto amplificado, e a 4% para o produto digerido, utilizando TBE 0,5X (1M Tris, 0,9M ácido bórico, 0,01M EDTA). Após a corrida, o gel foi corado em solução 3x concentrada de GelRed™ (Biotium Inc., CA, USA), conforme instruções do fabricante, e observado em transluminador ultravioleta. Os fragmentos foram identificados com base na utilização dos marcadores de peso molecular 50bp e 100bp DNA Ladder (Invitrogen™, NY, USA).

4.6 TIPIFICAÇÃO MOLECULAR

Os isolados identificados como *Mycobacterium bovis* foram submetidos à técnica de *spoligotyping*. Em cada reação foram utilizados 20 pmoles de cada *primers*, DRa (5'-GGGTTTGGGTCTGACGAC-3', biotinado em 5') e DRb (5'-CCGAGAGGGGACGGAAC-3'), e 2,5 µL da amostra de DNA. O termociclador foi programado para um ciclo a 96°C por 3 min, 30 ciclos a 96°C por 1 min, 55°C por 1 min e 72°C por 30 s, e um ciclo final a 72°C por 10 min.

A visualização do resultado foi feita por meio de hibridização do produto amplificado a 43 oligonucleotídeos, correspondentes a cada sequência espaçadora, ligados covalentemente a uma membrana de nitrocelulose. A diferenciação dos isolados foi observada pela ausência ou presença das sequências espaçadoras, que formaram um padrão de hibridização característico (KAMERBEEK et al., 1997).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as 211 amostras recebidas a partir de um total de 101 animais, 141 apresentaram resultado negativo para o isolamento de micobactérias e 70, resultado positivo. Nove foram identificadas como espécies do CMT e 61 como MNT.

Os resultados estão apresentados nos quadros 8, 9, 10, 11 e 12, de acordo com a classe animal, mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes, respectivamente.

Mamíferos

Quadro 8 – Isolados de *Mycobacterium* spp. em mamíferos silvestres em cativeiro

Classe Mammalia	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Artiodactyla			
Família Bovidae			
grande-kudu (<i>Tragelaphus strepsiceros</i>)	2	0	
waterbuck (<i>Kobus ellipsiprymnus</i>)	1	0	
Família Camelidae			
camelo (<i>Camelus bactrianus</i>)	1	1	<i>M. moriokaense</i> ; <i>M. flavescens</i>
lhama (<i>Lama glama</i>)	2	2	<i>M. bovis</i>
Família Cervidae			
cervo-dama (<i>Dama dama</i>)	5	2	<i>M. malmoense</i> ; <i>M. alvei</i>
Família Hippopotamidae			
hipopótamo (<i>Hippopotamus amphibius</i>)	1	1	<i>M. fortuitum</i>
Ordem Carnivora			
Família Mustelidae			
lontra (<i>Lontra longicaudis</i>)	1	0	
Ordem Diprotodontia			
Família Macropodidae			
canguru wallaby (<i>Macropus rufogriseus</i>)	3	1	<i>Mycobacterium</i> sp.
Ordem Perissodactyla			
Família Tapiridae			
anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	2	1	<i>M. gordonae</i>

(conclusão)

Classe Mammalia	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Primates			
Família Atelidae			
bugio (<i>Alouatta guariba</i>)	2	1	<i>M. abscessus</i>
Família Hominidae			
chimpanzé (<i>Pan troglodytes</i>)	2	0	
Família Pitheciidae			
parauacu-branco (<i>Pithecia albicans</i>)	1	0	
Família Cebidae			
macaco-prego (<i>Cebus apella</i>)	21	6	<i>M. tuberculosis</i> , <i>Mycobacterium</i> sp.; <i>M. gordonae</i> , <i>M. interjectum</i> ; <i>M. conceptionense</i> ; <i>M. fortuitum</i> ; <i>M. nonchromogenicum</i>
Ordem Proboscidea			
Família Elephantidae			
elefante-asiático (<i>Elephas maximus</i>)	1	1	<i>M. tuberculosis</i>
Ordem Rodentia			
Família Caviidae			
capivara (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>)	1	1	<i>M. bovis</i>
Família Erethizontidae			
ouriço (<i>Sphiggurus villosus</i>)	1	0	
Família Myocastoridae			
ratão-do-banhado (<i>Myocastor coypus</i>)	1	0	
Ordem Sirenia			
Família Trichechidae			
peixe-boi-da-Amazônia (<i>Trichechus inunguis</i>)	1	1	<i>M. fortuitum</i> ; <i>M. abscessus</i> ; <i>M. thermoresistibile</i> ; <i>M. neoaurum</i> ; <i>M. szulgai</i> ; <i>M. massiliense</i> ; <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. chitae</i>

Primates

A tuberculose (TB) está entre as zoonoses mais importantes e a espécie *M. tuberculosis* é considerada o agente etiológico mais significativo para os primatas (MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001; MARTINO; HUBBARD; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, 2007; PAYNE et al., 2011), apesar de também haver relatos de infecção por *M. africanum* (THOREL, 1980; DE JONG; ANTONIO; GAGNEUX, 2010), *M. bovis* (ZUMPE; SILBERMAN;

MICHAEL, 1980; WILSON et al., 1984; GARCIA et al., 2004) e *M. microti* (HENRICH et al., 2007).

A suscetibilidade em relação à origem das espécies é tendenciosa ao ser considerada maior em primatas do “Velho Mundo” (África e Ásia) e menor nos do “Novo Mundo” (Américas Central e do Sul) (IALEGGIO, 1997; MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001; MARTINO; HUBBARD; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, 2007), porém, ambos são suscetíveis à TB (HAMERTON, 1935; UNE; MORI, 2007; BAILEY; MANSFIELD, 2010; ROCHA et al., 2011b; BURGOS-RODRIGUEZ, 2011).

Um macaco-prego (*Cebus apella*) com idade de 18 anos foi positivo para *M. tuberculosis* a partir de uma amostra de conteúdo purulento de um abscesso pulmonar *post mortem*. Em histórico, o animal exibia sinais discretos como ruído respiratório anormal no hemitórax direito e apresentou, em exames adicionais, monocitose, imagem radiopaca no pulmão direito e resultado positivo para teste tuberculínico bovino, o qual foi considerado um falso-positivo após uma amostra de lavado traqueobrônquico ser negativo para cultura.

Com tratamento para suspeita de pneumonia comum, as manifestações clínicas melhoraram, mas o animal morreu quatro meses depois. Os exames macroscópicos revelaram emagrecimento, granulomas supurativos na cavidade torácica, congestão e edema pulmonar, nefropatia crônica hemorrágica e congestão hepática e esplênica. Todos os resultados corroboram com outros estudos, em termos clínicos e necroscópicos (WILSON et al., 1984; ALFONSO et al., 2004; MARTINO; HUBBARD; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, 2007; UNE; MORI, 2007).

Com a preocupação da disseminação entre os animais da colônia, sete indivíduos foram submetidos à coleta de amostras de *swabs* retais e lavados traqueobrônquicos, e três foram eutanasiados para coleta de pulmão e intestino. Todas as amostras foram negativas para cultura, com exceção de um isolado de *M. fortuitum* e dois de *M. nonchromogenicum*, a partir de duas amostras de intestino, e de um isolado de *M. conceptionense* em uma amostra de pulmão.

As três espécies isoladas são MNT e podem ser encontradas no ambiente (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004). *Mycobacterium conceptionense* já foi associado à infecção pulmonar em humanos (KIM et al.,

2012), mas o fragmento de pulmão, do qual foi isolado, não apresentava qualquer alteração macroscópica.

O contato e a ingestão de MNT do solo e da água são inevitáveis (SOMOSKOVI; SALFINGER, 2014), e a colonização das vias digestivas foi observada pelo isolamento de *M. fortuitum*, *M. nonchromogenicum*, *M. chelonae* e *M. intracellulare* a partir de amostras de lavado gástrico sem o desenvolvimento da doença (ALFONSO et al., 2004).

Outra MNT que pode ser relacionada à colonização do trato gastrointestinal em primatas é *M. gordonae*, obtida em amostras de fezes de saguis-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*) (WACHTMAN et al., 2011), e também isolada a partir de uma amostra de *swab* de cavidade oral de outro macaco-prego de uma segunda colônia composta por 10 animais. Desse mesmo animal, foi isolado *M. interjectum*, do qual há relatos correlacionando-o à doença pulmonar em humanos (MIRANT-BORDE; ALVAREZ; JOHNSON, 2013) e a uma provável interferência com teste tuberculínico e sorológico em um hipopótamo-pigmeu (*Hexaprotodon liberiensis*) (BOUTS et al., 2009). Nenhum macaco-prego da segunda colônia apresentou sinais clínicos compatíveis com infecção micobacteriana.

Lesões cutâneas causadas por micobacteriose podem ser facilmente adquiridas por contaminação de solução de continuidade da pele. Um bugio apresentou aumento de volume no membro anterior direito em um período de cinco dias. Ao exame clínico, não apresentou outras alterações. O conteúdo do nódulo era branco e amarelado com aspecto caseoso, e desse material foi isolado *M. abscessus*.

Em primatas, o *M. abscessus* foi descrito em um macaco-da-noite (*Aotus trivirgatus*) com emagrecimento como única manifestação clínica e pneumonia granulomatosa focal, hepatite e leve pielonefrite em exames *post mortem* (KARLSON; SEIBOLD; WOLF, 1970). Em humanos, é responsável por causar de infecções cutâneas e em tecidos moles após cirurgias plásticas, e reconhecida por infecções disseminadas e pulmonares em pacientes imunocomprometidos (NESSAR et al., 2012).

Elefantídeos

Atualmente, *M. tuberculosis* é considerado a causa mais importante da TB em elefantes, dado que é o mais isolado (MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001). Uma doença semelhante foi descrita nesses animais antes mesmo de seu agente etiológico ser descoberto (MIKOTA; MASLOW, 2011).

Em cativeiro, os elefante, tanto o asiático (*Elephas maximus*) como o africano (*Loxodonta africana*), são mantidos em parques zoológicos e circos pelo mundo, sendo que na Ásia há a maior população destes animais em cativeiro. A principal via de transmissão do *M. tuberculosis* para a população de elefantes cativos é provavelmente o contato com humanos doentes (ANGKAWANISH et al., 2010; MONTALI; MIKOTA; CHENG, 2001). Não foram encontrados relatos documentados a respeito de tuberculose em elefantes no Brasil, portanto, este pode ser o primeiro caso constatado.

Um elefante asiático de 70 anos foi positivo para *M. tuberculosis* a partir de amostras de granulomas pulmonar e em linfonodo mesentérico. Em histórico, o animal foi submetido à cirurgia após uma briga com outro elefante que resultou em grave ferimento na tromba, porém, morreu durante o procedimento. À necropsia, apresentou grande quantidade de nódulos supurativos cobrindo 70% da superfície pulmonar, e aumento de linfonodos mesentéricos com nódulos multifocais esbranquiçados.

Entre as manifestações clínicas, os elefantes podem exibir perda de peso, intolerância a exercícios, tosse e secreções nasais, mas a ausência delas é frequente, portanto, não é incomum encontrar lesões de infecções pulmonar e gastrointestinal em exames *post mortem* em animais assintomáticos (MIKOTA et al., 2001).

As alterações patológicas tendem a serem maiores em pulmão e linfonodos torácicos, mas lesões localizadas em vias digestivas demonstram o risco de reinfecção e de transmissão entre animais, considerando a utilização da tromba para ingestão de água e alimentos, e o comportamento social de colocarem a tromba na boca dos outros indivíduos (MIKOTA; MASLOW, 2011). Além disso, podem borrifar água a muitos metros de distancia possibilitando a transmissão para humanos também (MICHALAK et al., 1998; OH et al., 2002; MIKOTA; MASLOW, 2011).

Por se tratar de uma espécie com risco de extinção, o tratamento de elefantes tem sido explorado (MIKOTA et al., 2001), mas devido às dificuldades em adaptar a antibioticoterapia e a falta de dados sobre a farmacocinética desses animais, há grande probabilidade do agente desenvolver resistência (MIKOTA; MASLOW, 2011).

Camelídeos

A tuberculose pulmonar e disseminada tem sido observada em camelos (*Camelus bactrianus*) e dromedários (*Camelus dromedarius*), criados para produção de carne e leite no Egito (MASON, 1912; MASON, 1917), fins esportivos nos Emirados Árabes (WERNERY et al., 2007) e coleções de zoológicos (BUSH et al., 1990) em outras partes do mundo, e pode ser causada por *M. bovis* (BUSH et al., 1990; CHARTIER et al., 1991), *M. tuberculosis* (GUMI et al., 2012), *M. caprae* (PATE et al., 2006) e *M. pinnipedii* (MOSER et al., 2008).

Uma amostra de lesão granulomatosa hepática de um camelo foi positiva para isolamento de *M. moriokaense* e *M. flavescens*. Estudos revelam que muitas lesões granulomatosas encontradas nesses animais podem ser causadas por MNT (MAMO et al., 2011; GUMI et al., 2012), como *M. kansasii* e *M. smegmatis* (ELMOSSALAMI; SIAM; EL-SERGANY, 1971). Em humanos, *M. flavescens* foi relacionado à doença granulomatosa disseminada em um indivíduo imunocomprometido (ALLEN; CHNG, 1993) e à infecção cutânea devido a injeções (MORENO GUILLEAN et al., 1986). Não há relatos de infecção por *M. moriokaense*, mas essa espécie já foi isolada a partir de uma amostra de esputo de um paciente tuberculoso e do solo (TSUKAMURA; YANO; IMAEDA, 1986).

A população crescente de camelídeos sul-americanos, em países europeus como Espanha, Suíça e os do Reino Unido, é decorrente de sua importação para fins comerciais, como animais de companhia e de produção (ALVAREZ et al., 2012; WERNERY; KINNE, 2012), e a TB entre alpacas (*Lama pacos*) e lhamas (*Lama glama*) ganhou destaque devido a surtos causados por *M. bovis* (GARCÍA-BOCANEGRA et al., 2010; TWOMEY et al., 2010) e *M. microti* (OEVERMANN et al., 2004; ZANOLARI et al., 2009).

Em um grupo de nove lhamas, seis animais morreram em menos de seis meses, mas apenas dois foram submetidos ao exame *post mortem*. Desses

indivíduos, foram obtidos isolados de *M. bovis* espoligotipo SB1961, a partir de lesões caseosas pulmonares. Em histórico, os dois animais apresentaram prostração, dispneia, anorexia e emagrecimento progressivo. À necropsia, ambos estavam caquéticos e exibiam nódulos na cavidade torácica, nos pulmões e na traqueia, associada à erosão, e lesões caseosas em linfonodos traqueobrônquicos e mediastínicos. Um deles também apresentou múltiplos nódulos e exsudato fribrioso em pericárdio, e nódulos em fígado, baço, pâncreas e rins. Todas as lesões revelaram áreas necróticas caseosas com discreta mineralização, infiltração de células inflamatórias e presença de BAAR, em exames microscópicos.

A doença generalizada é bem descrita em lhamas (BARLOW; MITCHELL; VISRAM, 1999; TWOMEY et al., 2007; TWOMEY et al., 2010). As infecções devem ter ocorrido devido ao contato com outro animal ou humano infectado (WERNERY; KINNE, 2012), já que esses animais eram mantidos em cativeiro com camelos, cervídeos, capivaras, macacos-prego e zebras.

Cavídeos

A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) é o maior roedor do mundo, e amplamente distribuído pela América Central e do Sul (MALDONADO-CHAPARRO; BLUMSTEIN, 2008). O interesse econômico por essa espécie tem aumentado devido ao sabor da carne e maior teor proteico em comparação às carnes bovina e suína, além do uso comercial do couro, pelo e gordura (HOFFMAN; CAWTHORN, 2013). Como a caça é proibida por lei no Brasil, a criação autorizada é necessária para suprir o mercado.

Uma capivara, criada para produção de carne exótica, foi positiva para isolamento de *M. bovis* espoligotipo SB1961 a partir de lesões piogranulomatosas em pulmão, observadas em abatedouro. Há poucos relatos de infecção micobacteriana em capivaras, mas a TB causada por *M. bovis* foi observada em dois indivíduos em cativeiro em um zoológico na República Tcheca, com sinais de tosse e emagrecimento, e lesões granulomatosas em linfonodos e tecido pulmonar no exame *post mortem* (PAVLIK et al., 2002).

Em um relato, uma capivara mantida em um centro de pesquisa não apresentava manifestações clínicas, e foi observada a infecção por *M.*

intracellulare isolado a partir de um linfonodo mesentérico com múltiplos nódulos granulomatosos (PEZZONE et al., 2013).

O comportamento altamente social da espécie favorece a transmissão da TB e por ser semiaquática, está sujeita a infecções por MNT através do ambiente. Em geral, as criações de capivaras são localizadas em pastos, muitas vezes compartilhadas com animais domésticos, e podem ter contato com espécies de vida livre. Assim, a transmissão de *M. bovis* pode ter ocorrido pelo contato com bovinos ou cervídeos hospedeiros do agente (ALBERTTI et al., 2015).

Cervídeos

Em relação aos cervídeos, há relatos de infecção por *M. bovis* em várias espécies (RHYAN et al., 1995; DE LISLE; MACKINTOSH; BENGIS, 2001; JOHSON et al., 2008), tanto em animais em cativeiros como em vida livre.

Amostras de dois cervos-dama foram submetidas ao isolamento. No primeiro animal foi isolado *M. malmoense* a partir de linfonodo, e no segundo, *M. alvei* de um nódulo intestinal. A infecção geralmente ocorre pela contaminação ambiental de água, alimento ou solo, e costuma ser subclínica, com lesões encontradas apenas em exames *post mortem* (MACKINTOSH et al., 2004). Amostras pulmonares de outros três cervos-dama tiveram resultados negativos à cultura.

O *M. malmoense* já foi associado a infecções pulmonares e linfadenites em humanos imunocompetentes que apresentavam alguma desordem, como alcoolismo (ABGUEGUEN et al., 2010) ou alteração respiratória (HOEFSLOOT et al., 2009). Entre os poucos relatos sobre micobacteriose causada por *M. alvei* estão um caso de abscesso na articulação do joelho adquirido após procedimento cirúrgico em humano (LEE et al., 2011) e outro de paniculite piogranulomatosa em um gato (BECCATI; PEANO; GALLO, 2007). Ambos foram transmitidos via ambiental por meio de lesões traumáticas, feridas, agulhas, injeções e/ou cirurgia (BECCATI; PEANO; GALLO, 2007; LEE et al., 2011).

Diversos estudos demonstram a presença de *M. bovis* em lesões granulomatosas de espécies de cervídeos, como veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), veado-vermelho (*Cervus elaphus*), cevo-dama (*Dama dama*), corça (*Capreolus capreolus*) e muntjac-chinês (*Muntiacus reevesi*)

(O'BRIEN et al., 2002; JOHNSON et al., 2008; MARTÍN-HERNANDO et al., 2010), por outro lado, MNT, como *M. avium* subsp. *paratuberculosis*, *M. avium* subsp. *avium*, *M. intracellulare*, podem ser isoladas também (ROBINSON et al., 1989; MACKINTOSH et al., 2004; ÁLVAREZ et al., 2005; BALSEIRO et al., 2008; DEL-POZO et al., 2013).

Hipopotamídeos

Os hipopótamos (*Hippopotamus amphibius*) são animais semiaquáticos que vivem em grupos e habitam lagos, rios e pântanos, profundos o suficiente para submergirem (BOISSERIE et al., 2011). O contato constante com a água contribui com o potencial de colonização e infecção pelas MNT.

Mycobacterium fortuitum foi isolado a partir de uma amostra de conteúdo nodular em joelho de um hipopótamo. Essa espécie é bastante associada à doença sistêmica em peixes (GAUTHIER, 2015), e tem sido relacionada a lesões cutâneas em cães (BERCOVIER; VINCENT, 2001), foca-comum (*Phoca vitulina*) (WELLS; GUTTER; VAN METER, 1990), leão-marinho-do-sul (*Otaria flavescens*) (LEWIS, 1987) e leopardo-nebuloso (*Neofelis nebulosa*) (CERVENY et al., 2013). Em humanos, pode causar doença pulmonar, osteomielite e infecções cutâneas (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004). Apesar do alto risco de contaminação ambiental pelas MNT, não foi encontrado relatos de micobacteriose em hipopótamos na literatura.

Tapirídeos

Antas (*Tapirus terrestris*) são animais considerados vulneráveis à extinção (NAVEDA et al., 2008), e são suscetíveis à TB, por *M. tuberculosis* (STERNBERG et al., 2002; MICHEL et al., 2003; MURAKAMI et al., 2012a) e *M. bovis* (PAVLIK et al., 2002). O tapir-malaio (*T. indicus*), espécie do mesmo gênero da anta, também apresenta suscetibilidade a *M. tuberculosis* (MICHEL et al., 2003), *M. bovis* (LOVELL, 1930) e *M. pinnipedii* (JURCZYNSKI et al., 2011).

Um isolado de *M. gordonae* foi obtido a partir de uma amostra de lavado traqueobrônquico de uma anta. Em humanos, há estudos de doenças pulmonar, cutânea e sistêmica em idosos e pacientes imunossuprimidos (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004), porém, não há relatos de infecção associada a essa espécie de micobactéria em animais. O isolamento de *M. gordonae* pode ser

atribuído à presença da espécie no ambiente (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004) ou à colonização da via digestiva do indivíduo, como já foi observado em primatas (ALFONSO et al., 2004).

Macropodídeos

Espécies de cangurus e de cangurus wallaby, como *Macropus giganteus*, *Macropus fuliginosus*, *Macropus eugenii*, *Macropus parma*, *Dendrolagus matschiei*, *Potorous tridactylus*, são suscetíveis a infecções micobacterianas (GRIFFITH, 1928; MANN; MONTALI; BUSH, 1982; SCHOON et al., 1993; MONTALI et al., 1998; CLELAND et al., 2010). Estudos identificaram micobacteriose causada por *M. avium* subsp. *paratuberculosis* (CLELAND et al., 2010), *M. avium* (MANN; MONTALI; BUSH, 1982; SCHOON et al., 1993; MONTALI et al., 1998), *M. genavense* (CLELAND et al., 2010) e *M. intracellulare* (PEET, DICKSON; NICKELS, 1982; MONTALI et al., 1998).

Amostras de um canguru wallaby (*Macropus rufogriseus*) foram submetidas à cultura, mas apenas o nódulo caseoso intestinal foi positivo, enquanto que o do baço, negativo. O isolado foi identificado como pertencente ao gênero *Mycobacterium*, porém, não foi possível a identificação da espécie, pois os padrões obtidos pela técnica PRA não foram conclusivos. Outros dois animais apresentaram resultados negativos a partir de amostras de swab de abscesso dentário, pulmão, baço e abscesso pulmonar.

Em geral, essas infecções podem se apresentar sem manifestações clínicas ou com sinais inespecíficos e, em exames *post mortem*, exibir aumento de linfonodos e da parede intestinal (MONTALI et al., 1998). É possível que o diagnóstico seja inconclusivo com lesões granulomatosas consistentes de infecção micobacteriana, presença de BAAR e resultado negativo para cultura (MANN; MONTALI; BUSH, 1982; CLELAND et al., 2010).

Sirenídeos

O peixe-boi-da-Amazônia (*Trichechus inunguis*) é o menor dos sirenídeos e o único exclusivo de água doce (CATANHEDE et al., 2005). Essa espécie está classificada como vulnerável (MARMONTEL, 2008). Sua mortalidade pode ser atribuída à ação e predação humana, mas doenças bacterianas são causas

importantes no declínio da população de sirenídeos de vida livre e em cativeiro (NIELSEN et al. 2013).

Mycobacterium fortuitum e *M. abscessus* foram isolados a partir de uma amostra de *swab* de lesão cutânea purulenta em um peixe-boi-da-Amazônia. Em histórico, o animal apresentou lesões circulares na pele acima das narinas, que evoluiu para um abscesso, apesar do tratamento para cicatrização e profilaxia de infecções ambientais. Após o diagnóstico de micobacteriose, o tratamento foi direcionado para as duas espécies isoladas. Não houve sinais de doença sistêmica, nem perda de apetite ou peso.

Durante um período de quase 30 meses, uma série de amostras do animal e do ambiente foi submetida à cultura para acompanhar a eficácia do tratamento e monitorar as micobactérias circulantes na água e no biofilme do ambiente (SOMOSKOVI; SALFINGER, 2014). O isolamento de *M. fortuitum* e *M. abscessus* foi condizente entre o peixe-boi e o ambiente, e persistiu como parte da microbiota do animal, mesmo após a lesão ter cicatrizado por completo.

Outras MNT foram isoladas esporadicamente e identificadas como *M. szulgai*, *M. thermoresistibile*, *M. neoaurum* e *M. massiliense*. Um dos isolados apresentou resultado compatível com *M. mucogenicum* e *M. chitae*.

Entre casos de micobacteriose em sirenídeos, foram isolados *M. chelonae* (BOEVER; THOEN; WALLACH, 1976) e *M. marinum* (MORALES; MADIN; HUNTER, 1985) em peixes-bois-da-Amazônia, e *M. marinum*, *M. fortuitum* e *M. kansasii* em dois peixes-bois-marinho (*T. manatus*) (SATO et al., 2003). As MNT parecem apresentar um grande risco às populações dessas espécies, pois em quase todos os relatos, a doença começou como lesão cutânea crônica nodular, seguida de ulceração e/ou desenvolvimento de abscessos, evolui para doença disseminada com lesões granulomatosas e morte (BOEVER; THOEN; WALLACH, 1976; MORALES; MADIN; HUNTER, 1985; SATO et al., 2003).

Aves

Infecções por micobactérias em aves ocorrem principalmente por *M. avium* (SILVA ADEL et al., 2009) e *M. genavense* (MANAROLLA et al., 2009). A transmissão mais comum é a via digestiva, seja por exposição a fezes de

animais infectados ou da própria contaminação do ambiente, mas pode ocorrer por vias aéreas (LENNOX, 2007). De acordo com as condições dos indivíduos como má nutrição ou situações de imunodeficiência, associado a populações densas expostas a um grande número de organismos, surtos podem ocorrer (KOCK et al., 1999; HARIDY et al., 2014a).

Quadro 9 – Isolados de *Mycobacterium* spp. em aves silvestres em cativeiro

Classe Aves	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Anseriformes			
Família Anatidae			
cisne-negro (<i>Cygnus atratus</i>)	2	0	
pato-corredor (<i>Neochen jubata</i>)	1	0	
Ordem Passeriformes			
Família Fringillidae			
canário belga (<i>Serinus canarius</i>)	1	0	
Família Icteridae			
pássaro-preto (<i>Gnorimopsar chopi</i>)	1	0	
Família Cotingidae			
pavó (<i>Pyroderus scutatus</i>)	1	0	
Ordem Piciformes			
Família Ramphastidae			
tucano-de-bico-verde (<i>Ramphastos dicolorus</i>)	1	0	
Ordem Procellariiformes			
Família Procellariidae			
pardela-de-óculos (<i>Procellaria conspicillata</i>)	1	1	<i>M. avium</i>
Ordem Psittaciformes			
Família Psittacidae			
calopsita (<i>Nymphicus hollandicus</i>)	1	0	
papagaio-charão (<i>Amazona pretrei</i>)	3	0	
papagaio-do-congo (<i>Psittacus erithacus</i>)	1	0	
papagaio-do-mangue (<i>Amazona amazonica</i>)	1	0	
papagaio-verdadeiro (<i>Amazona aestiva</i>)	5	1	<i>M. tuberculosis</i>

Uma pardela-de-óculos (*Procellaria conspicillata*) foi positiva *M. avium* a partir de amostras de pulmão, rim e fígado. Em histórico, o animal apresentava caquexia, hipotermia, mucosa ocular e oral hipocoradas e inapetência. À necropsia, infecção granulomatosa disseminada foi observada. Todas as

manifestações exibidas são características de infecção por *M. avium* e *M. genavense* (LENNOX, 2007).

Ambas as espécies são de grande relevância à saúde humana, pois são conhecidas por causar infecção, variando entre linfadenite a doença disseminada, principalmente em pacientes imunodeficientes (LENNOX, 2007; SILVA ADEL et al., 2009).

A infecção por *M. tuberculosis* tem sido documentada, principalmente em psitacídeos, como papagaio-moleiro (*Amazona farinosa*) (ACKERMAN; BENBROOK; WALTON, 1974), arara-vermelha (*Ara chloropterus*) (WASHKO et al., 1998; STEINMETZ et al., 2006), papagaio-do-congo (*Psittacus erithacus*) (SCHMIDT et al., 2008), papagaio-de-nuca-amarela (*Amazona auropalliata*), papagaio-diadema (*Amazona autumnalis*), periquito-da-Nova-Zelândia (*Cyanoramphus novaezelandiae*) (LANTERI et al., 2011), papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) e, entre os fringílídeos, canário (*Serinus canaria*) (HOOP, 2002). Apesar de a relação interespecífica de transmissão entre humanos e psitacídeos ser bem documentado, não foram encontrados relatos da TB nesses animais no Brasil.

Um papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*) foi positivo para *M. tuberculosis* a partir de amostras de fragmento hepático e nódulo. Em histórico, o proprietário era suspeito de estar infectado e não tinha outras aves contactantes.

O número de relatos de *M. tuberculosis* em aves é bem menor do que o de *M. avium* e *M. genavense*. Contudo, a transmissão do primeiro requer contato prolongado com um indivíduo doente, geralmente um humano, o que ocorre quando são mantidos em cativeiro, principalmente como animais de companhia (ACKERMAN; BENBROOK; WALTON, 1974; WASHKO et al., 1998; STEINMETZ et al., 2006; SCHMIDT et al., 2008).

Répteis

Micobacteriose em répteis não é muito comum, mas se desenvolve como nas outras classes, com lesões granulomatosas em diferentes órgãos e manifestações clínicas de acordo com o tecido afetado (EBANI et al., 2012; MITCHELL, 2012). As espécies isoladas são MNT, adquiridas por ingestão (REAVILL; SCHMIDT, 2012) ou através de lesões cutâneas (EBANI et al., 2012).

Quadro 10 – Isolados de *Mycobacterium* spp. em répteis em cativeiro

Classe Reptilia	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Testudines			
Família Chelidae			
cágado-listrado (<i>Phrynops geoffroanus</i>)	1	0	
Família Testudinidae			
jabuti (<i>Chelonoidis carbonaria</i>)	3	0	
Ordem Squamata			
Família Amphisbaenidae			
cobra-de-duas-cabeças (<i>Amphisbaena alba</i>)	1	1	<i>M. chelonae</i>
Família Colubridae			
cobra-verde (<i>Philodryas olfersii</i>)	1	1	<i>M. chelonae</i>
Família Iguanidae			
iguana (<i>Iguana iguana</i>)	1	0	
Família Boidae			
jiboia (<i>Boa constrictor</i>)	1	1	<i>M. abscessus</i> ; <i>M. montefiorensis</i>
pítton-carpete (<i>Morelia spilota</i>)	1	0	
suaçubóia (<i>Corallus hortulanus</i>)	1	0	
Ordem Crocodylia			
Família Crocodylidae			
jacaré-do-papo-amarelo (<i>Caiman latirostris</i>)	1	0	

Mycobacterium chelonae foi isolado em uma cobra-de-duas-cabeças (*Amphisbaena alba*) a partir de amostras de *swab* da cavidade oral e conteúdo caseoso de nódulo encontrado na mesma, e em uma cobra-verde (*Philodryas olfersii*), de abscessos subcutâneos. Uma jiboia (*Boa constrictor*) foi positiva para *M. abscessus* a partir de uma amostra de *swab* traqueal, e para *M. montefiorensis*, de baço e fígado. A amostra de pulmão da jiboia foi negativa à cultura.

Em cobras e serpentes, lesões orais e pneumonia são mais observadas (ARONSON, 1929; OLSON; WOODARD, 1974; KIEL, 1977; QUESENBERRY et al., 1986; HERNANDEZ-DIVERS; SHEARER, 2002). É possível que haja lesão por trauma da mucosa oral seguida de infecção do ambiente, o que permite a disseminação para pulmões por aspiração de exsudatos (REAVILL; SCHMIDT, 2012).

Há relatos de isolamento de *M. chelonae* não apenas em cobras (QUESENBERRY et al., 1986), mas também em crocodilianos (SLANY et al., 2010), quelônios (GREER; STRANDBERG; WHITAKER, 2003) e lagartos (EBANI et al., 2012).

Mycobacterium abscessus está entre as espécies mais associadas à infecção, juntamente com *M. fortuitum* e *M. chelonae*, em peixes (GAUTHIER, 2015), além de humanos (NESSAR et al., 2012). Porém, o isolado da jiboia pode ser decorrente de contaminação do ambiente (SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004). Já a espécie *M. montefiorensis* não apresenta muita informação, exceto que pode ser isolada no ambiente (MRLIK et al., 2012) e já foi relacionada a lesões cutâneas granulomatosas em moreia-verde (*Gymnothorax funebris*) (LEVI et al., 2003).

A baixa prevalência em répteis pode ser associada com a falta de diagnóstico *post mortem* (MITCHELL, 2012), considerando que aparentam boas condições de saúde mesmo quando infectados (EBANI et al., 2012). O número de répteis, mantidos como animais de companhia, tem crescido junto com o risco de exposição de humanos aos patógenos presentes nesses animais (EBANI et al., 2012). Assim, é necessária maior atenção à higiene e desinfecção pessoal após manipular o animal e à higiene do local de habitação do mesmo (EBANI et al., 2012).

Anfíbios

As micobactérias têm apresentado grande relevância em termos de morbidade e mortalidade em anfíbios, com doença cutânea ulcerativa ou generalizada com múltiplos granulomas (MARTINHO; HEATLEY, 2012).

Entre as espécies de MNT associadas à infecção estão *M. fortuitum* (MARTINHO; HEATLEY, 2012), *M. chelonae* (GREEN et al., 2000), *M. szulgai* (CHAI et al., 2006), *M. marinum* (FERREIRA et al., 2006; HARIDY et al., 2014b) e *M. liflandi* (SUYKERBUYK et al., 2007; FREMONT-RAHL et al., 2011; CHAI et al., 2012). Também foi isolada uma espécie semelhante a *M. ulcerans* (TROTT et al., 2004; WILLSON et al., 2013).

Quadro 11 – Isolados de *Mycobacterium* spp. em anfíbios em cativeiro

Classe Amphibia	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Anura			
Família Microhylidae			
rã-bicuda (<i>Dermatonotus muelleri</i>)	3	3	<i>Mycobacterium</i> sp.; <i>M. fortuitum</i> ; <i>M. goodii</i> , <i>M. mageritense</i> , <i>M. smegmatis</i> ; <i>M. peregrinum</i> , <i>M. porcinum</i> , <i>M. septicum</i> ; <i>M. wolinski</i>
Família Bombinatoridae			
rã-bombina (<i>Bombina orientalis</i>)	1	1	<i>M. peregrinum</i>
Família Ranidae			
rã-touro (<i>Lithobates catesbeianus</i>)	3	1	<i>M. bovis</i>
Família Bufonidae			
sapo-cururu (<i>Rhinella schneideri</i>)	1	0	
Família Hylidae			
sapo-martelo (<i>Hypsiboas faber</i>)	1	1	<i>M. fortuitum</i> ; <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. phocaicum</i>

Amostras de uma rã-bicuda (*Dermatonotus muelleri*) foram submetidas ao isolamento de micobactérias, mas os padrões obtidos pela técnica PRA não foram conclusivos para identificar a espécie. A primeira amostra foi um *swab* de lesão cutânea em membro anterior, cujo resultado inconclusivo levou à amostragem de fragmentos das lesões cutâneas, presentes em membros anterior e posterior esquerdos.

Com a preocupação de transmissão da micobacteriose a outros animais da colônia, amostras do ambiente e de outros dois indivíduos foram submetidos à cultura. Os isolados obtidos do segundo animal, que também apresentava lesão cutânea, revelaram os mesmos padrões do primeiro indivíduo. Já os da terceira rã-bicuda foram condizentes aos do ambiente em que viviam.

Em uma rã-bombina (*Bombina orientalis*), foi isolado *M. peregrinum* a partir de uma amostra de pele, e em um sapo-martelo (*Hypsiboas faber*), *M. fortuitum* e provável *M. mucogenicum* ou *M. phocaicum* de pulmão e traqueia. Nenhuma dessas amostras exibia lesão. Apesar de algumas espécies estarem relacionadas à doença, é possível que só fizessem parte da microbiota (ALFONSO et al., 2004).

Uma rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) apresentou resultado positivo para *M. bovis* a partir de uma amostra de *swab* de líquido da cavidade celomática. Em histórico, o animal, adquirido em um criadouro, foi mantido em cativeiro por cinco anos e morreu sem qualquer alteração clínica. À necropsia, foi observada a presença de líquido translúcido e consistência viscosa na cavidade celomática, e nódulos multifocais em pulmão, baço, fígado, intestino e rins, os quais apresentavam coloração enegrecida. Em exames microscópicos, foram revelados múltiplos granulomas nos tecidos com presença de BAAR. As três rãs-touros contactantes não apresentaram qualquer sintoma clínico de doença.

Diversas espécies de anfíbios, incluindo a rã-touro, são mantidas em cativeiro em laboratórios de pesquisa, zoológicos e aquários, e é comum encontrar colônias de produção de carne e manter essas espécies como animais de companhia (MARTINHO; HEATLEY, 2012), o que aumenta o risco de transmissão e potencial para surtos (FERREIRA et al., 2006).

Peixes

Tanto peixes de água doce quanto os de água salgada estão suscetíveis às infecções causadas por micobactérias (TORANZO; MAGARIÑOS; ROMALDE, 2005; ZANONI et al., 2008). Em geral, apresentam doenças crônicas com granulomas em vísceras e músculos (MRLIK et al., 2012; ROUTH, 2013).

As espécies de micobactérias mais descritas em peixes são *M. marinum*, *M. fortuitum* e *M. chelonae*, e podem ser encontradas em ambientes tropicais, subtropicais, temperados e frios (MRLIK et al., 2012), mas nem sempre a doença é causada por uma delas (ROUTH, 2013).

As mesmas MNT associadas à infecção podem ser isoladas em peixes clinicamente saudáveis (BERAN et al., 2006; ZANONI et al., 2008), já que são encontradas na água e no biofilme formado no ambiente, natural e feito pelo homem (HALL-STOODLEY; KEEVIL; LAPPIN-SCOTT, 1998; SEPTEMBER; BRÖZEL; VENTER, 2004).

Quadro 12 – Isolados de *Mycobacterium* spp. em peixes em cativeiro

Subclasse Actinopterygii	nº indivíduos	nº indivíduos positivos	<i>Mycobacterium</i> spp. isolados
Ordem Characiformes			
Família Serrasalminidae			
tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	1	1	<i>M. fortuitum</i>
Ordem Cypriniformes			
Família Cyprinidae			
kinguio (<i>Carassius auratus</i>)	1	0	
Ordem Osteoglossiformes			
Família Arapaimidae			
pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>)	1	1	<i>M. abscessus</i>
Ordem Perciformes			
Família Cichlidae			
tucunaré (<i>Cichla</i> spp.)	3	3	<i>M. fortuitum</i> ; <i>M. marinum</i> , <i>M. ulcerans</i> ; <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. phocaicum</i> ; <i>M. nonchromogenicum</i> ; <i>Mycobacterium</i> sp.
peixe-oscar (<i>Astronotus</i> spp.)	2	0	
Família Zanclidae			
zanclus (<i>Zanclus cornutus</i>)	1	1	<i>M. abscessus</i> ; <i>M. fortuitum</i> ; <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. phocaicum</i>
Família Apogonidae			
cardinal bangai (<i>Pterapogon kauderni</i>)	1	1	<i>M. chelonae</i>
Ordem Siluriformes			
Família Pimelodidae			
pirarara (<i>Phractocephalus hemioliopus</i>)	2	2	<i>M. fortuitum</i> ; <i>M. mucogenicum</i> , <i>M. phocaicum</i>
Ordem Syngnathiformes			
Família Syngnathidae			
cavalo-marinho (<i>Hippocampus</i> sp.)	1	0	

Mycobacterium fortuitum, *M. marinum* e *M. ulcerans* foram isolados de um tucunaré (*Cichla* spp.), e *M. chelonae* de um cardinal bangai (*Pterapogon kauderni*). As amostras de ambas as espécies eram de lesões purulentas e granulomatosas, respectivamente.

De outros peixes, que incluíam outros tucunarés, pirarucu (*Arapaima gigas*), zanclus (*Zanclus cornutus*) e pirararas (*Phractocephalus hemioliopus*), foram isolados *M. fortuitum*, *M. mucogenicum*, *M. phocaicum*, *M. abscessus*, *M.*

nonchromogenicum e *Mycobacterium* sp., de amostras de lesão cutânea, vísceras, pele e brânquias. As mesmas MNT foram isoladas de amostras ambientais.

O impacto da micobacteriose na aquicultura e em aquários é significativo ao considerar as perdas econômicas e de animais de valor genético, além da exposição humana a infecções pela água contaminada e lesões adquiridas durante o processamento e preparação de alimento (GAUTHIER, 2015).

6 CONCLUSÃO

Pelos resultados obtidos, podemos concluir que:

- *Mycobacterium tuberculosis* e *M. bovis* circulam entre os animais silvestres em cativeiro mantidos em instituições brasileiras;
- A presença de *M. tuberculosis* era esperada, pois humanos são portadores, corroborando com a literatura;
- A presença de *M. bovis* no ambiente brasileiro foi relevante, considerando que as espécies silvestres acometidas têm como finalidade a produção de carne, além da exposição ao público;
- Pela ampla gama de hospedeiros em potencial, projetos devem ser propostos para identificar as fontes de infecção e esclarecer as vias de transmissão para essas espécies animais;
- Muitas MNT foram identificadas como causa de doença, mas apesar de serem vistas como ocorrências inevitáveis, já que fazem parte do ambiente, deve ser considerada sua importância de acordo com a espécie animal acometida.

REFERÊNCIAS

ABGUEGUEN, P.; RABIER, V.; MAHAZA, C.; WAROT, A.; CHENNEBAULT, J. M.; PICHARD, E. *Mycobacterium malmoense*: an underestimated nontuberculous mycobacterium. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v. 66, n. 1, p. 98-100, 2010.

ACKERMAN, L. J.; BENBROOK, S. C.; WALTON, B. C. *Mycobacterium tuberculosis* infection in a parrot (*Amazona farinosa*). **The American Review of Respiratory Disease**, New York, v. 109, n. 3, p. 388-390, 1974.

ALBERTTI, L. A. G.; SOUZA-FILHO, A. F.; FONSECA-JÚNIOR, A. A.; FREITAS, M. E.; DE OLIVEIRA-PELLEGRIN, A.; ZIMMERMANN, N. P.; TOMÁS, W. M.; PÉRES, I. A. H. F. S.; FONTANA, I.; OSÓRIO, A. L. A. R. Mycobacteria species in wild mammals of the Pantanal of central South America. **European Journal of Wildlife Research**, Berlin, v. 61, n. 1, p. 163-166, 2015.

ALLEN, D. M.; CHNG, H. H. Disseminated *Mycobacterium flavescens* in a probable case of chronic granulomatous disease. **Journal of Infection**, Kent, v. 26, n. 1, p. 83-86, 1993.

ALFONSO, R.; ROMERO, R. E.; DIAZ, A.; CALDERON, M. N.; URDANETA, G.; ARCE, J.; PATARROYO, M. E.; PATARROYO, M. A. Isolation and identification of mycobacteria in New World primates maintained in captivity. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 98, n. 3-4, p. 285-295, 2004.

ALVAREZ, J.; BEZOS, J.; DE JUAN, L.; VORDERMEIER, M.; RODRIGUEZ, S.; FERNANDEZ-DE-MERA, I. G.; MATEOS, A.; DOMÍNGUEZ, L. Diagnosis of tuberculosis in camelids: old problems, current solutions and future challenges. **Transboundary and Emerging Diseases**. Berlin, v. 59, n. 1, p. 1-10, 2012.

ÁLVAREZ, J.; DE JUAN, L.; BRIONES, V.; ROMERO, B.; ARANAZ, A.; FERNÁNDEZ-GARAYZÁBAL, J. F.; MATEOS, A. *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in fallow deer and wild boar in Spain. **The Veterinary Record**, London, v. 156, n. 7, p. 212-213, 2005.

AMBROSIO, S. R.; OLIVEIRA, E. M. D.; RODRIGUEZ, C. A. R.; FERREIRA NETO, J. S.; AMAKU, M. Comparison of three decontamination methods for *Mycobacterium bovis* isolation. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 2, p. 241-244, 2008.

ANGKAWANISH, T.; WAJJWALKU, W.; SIRIMALAISUWAN, A.; MAHASAWANGKUL, S.; KAEWSAKHORN, T.; BOONSRI, K.; RUTTEN, V. P. *Mycobacterium tuberculosis* infection of domesticated Asian elephants, Thailand. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 16, n. 12, p. 1949-1951, 2010.

ARONSON, J. D. Spontaneous tuberculosis in snakes. **The Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 44, n. 3, p. 215-223, 1929.

ARTOIS, M.; BLANCOU, J.; DUPEYROUX, O.; GILOT-FROMONT, E. Sustainable control of zoonotic pathogens in wildlife: how to be fair to wild animals? **Revue scientifique et technique (Office international des épizooties)**, Paris, v. 30, n. 3, p. 733-743, 2011.

BAILEY, C.; MANSFIELD, K. Emerging and reemerging infectious diseases of nonhuman primates in the laboratory setting. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 47, n. 3, p. 462-481, 2010.

BALSEIRO, A.; GARCÍA MARÍN, J. F.; SOLANO, P.; GARRIDO, J. M.; PRIETO, J. M. Histopathological classification of lesions observed in natural cases of paratuberculosis in free-ranging fallow deer (*Dama dama*). **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 138, n. 4, p. 180-188, 2008.

BARLOW, A. M.; MITCHELL, K. A.; VISRAM, K. H. Bovine tuberculosis in llama (*Lama glama*) in the UK. **The Veterinary Record**, London, v. 145, n. 22, p. 639-640, 1999.

BECCATI, M.; PEANO, A.; GALLO, M. G. Pyogranulomatous panniculitis caused by *Mycobacterium alvei* in a cat. **The Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 48, n. 11, p. 664, 2007.

BEMER-MELCHIOR, P.; DRUGEON, H. B. Inactivation of *Mycobacterium tuberculosis* for DNA typing analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 37, n. 7, p. 2350-2351, 1999.

BERAN, V.; MATLOVA, L.; DVORSKA, L.; SVASTOVA, P.; PAVLIK, I. Distribution of mycobacteria in clinically healthy ornamental fish and their aquarium environment. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 29, n. 7, p. 383-393, 2006.

BERCOVIER, H.; VINCENT, V. Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. porcinum*,

M. farcinogenes, M. smegmatis, M. scrofulaceum, M. xenopi, M. kansasii, M. simiae and M. genavense. **Revue scientifique et technique (Office international des épizooties)**, Paris, v. 20, n. 1, p. 265-290, 2001.

BOEVER, W. J.; THOEN, C. O.; WALLACH, J. D. *Mycobacterium chelonae* infection in a natterer manatee. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 169, n. 9, p. 927-929, 1976.

BOISSERIE, J. R.; FISHER, R. E.; LIHOREAU, F.; WESTON, E. M. Evolving between land and water: key questions on the emergence and history of the Hippopotamidae (Hippopotamoidea, Cetancodonta, Cetartiodactyla). **Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society**, London, v. 86, n. 3, p. 601-625, 2011.

BOUTS, T.; VORDERMEIER, M.; FLACH, E.; ROUTH, A. Positive skin and serologic test results of diagnostic assays for bovine tuberculosis and subsequent isolation of *Mycobacterium interjectum* in a pygmy hippopotamus (*Hexaprotodon liberiensis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 40, n. 3, p. 536-542, 2009.

BRAMMER, D. W.; O'ROURKE, C. M.; HEATH, L. A.; CHRISP, C. E.; PETER, G. K.; HOFING, G. L. *Mycobacterium kansasii* infection in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus sciureus*). **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 24, n. 4, p. 231-235, 1995.

BURGOS-RODRIGUEZ, A. G. Zoonotic Diseases of Primates. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Philadelphia, v. 14, n. 3, p. 557-575, 2011.

BUSH, M.; MONTALI, R. J.; PHILLIPS, L. G.; HOLOBAUGH, P. A. Bovine tuberculosis in a Bactrian camel herd: clinical, therapeutic, and pathologic findings. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 21, n. 2, p. 171-179, 1990.

BUSHMITZ, M.; LECU, A.; VERRECK, F.; PREUSSING, E.; RENSING, S.; MÄTZ-RENSING, K. Guidelines for the prevention and control of tuberculosis in non-human primates: recommendations of the European Primate Veterinary Association Working Group on Tuberculosis. **Journal of Medical Primatology**, Copenhagen, v. 38, n. 1, p. 59-69, 2009.

CATANHEDE, A. M.; DA SILVA, V. M.; FARIAS, I. P.; HRBEK, T.; LAZZARINI, S. M.; ALVES-GOMES, J. Phylogeography and population genetics of the

endangered Amazonian manatee, *Trichechus inunguis* Natterer, 1883 (Mammalia, Sirenia). **Molecular Ecology**, Oxford, v. 14, n. 2, p. 401-413, 2005.

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Tuberculosis**. Bacteriología de la tuberculosis: el cultivo del *Mycobacterium tuberculosis*. Buenos Aires: CPZ, 1985. (Nota técnica, n. 27).

CERVENY, S. N.; THOMPSON, M. E.; CORNER, S. M.; SWINFORD, A. K.; COKE, R. L. Cutaneous atypical mycobacteriosis in a clouded leopard (*Neofelis nebulosi*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 44, n. 3, p. 756-760, 2013.

CHAI, N.; DEFORGES, L.; SOUGAKOFF, W.; TRUFFOT-PERNOT, C.; DE LUZE, A.; DEMENEIX, B.; CLÉMENT, M.; BOMSEL, M. C. *Mycobacterium szulgai* infection in a captive population of African clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 37, n. 1, p. 55-58, 2006.

CHAI, N.; BRONCHAIN, O.; PANTEIX, G.; GODREUIL, S.; DE MEDEIROS, C.; SAUNDER, R.; BOUTS, T.; DE LUZE, A. Propagation method of saving valuable strains from a *Mycobacterium liflandii* infection in Western clawed frogs (*Silurana tropicalis*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 43, n. 1, p. 15-19, 2012.

CHARTIER, F.; CHARTIER, C.; THOREL, M. F.; CRESPEAU, F. A new case of *Mycobacterium bovis* pulmonary tuberculosis in the dromedary (*Camelus dromedarius*) in Mauritania. **Revue d'Élevage et de Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux**, Paris, v. 44, n. 1, p. 43-47, 1991.

CHAMBERS, M. A. Review of the diagnosis and study of tuberculosis in non-bovine wildlife species using immunological methods. **Transboundary and Emerging Diseases**, Berlin, v. 56, n. 6-7, p. 215-227, 2009.

CLELAND, P. C.; LEHMANN, D. R.; PHILLIPS, P. H.; COUSINS, D. V.; REDDAKLIFF, L. A.; WHITTINGTON, R. J. A survey to detect the presence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Kangaroo Island macropods. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 145, n. 3-4, p. 339-346, 2010.

CORNER, L. A.; TRAJSTMAN, A. C. An evaluation of 1-Hexadecylpyridinium Chloride as a decontaminant in the primary isolation of *Mycobacterium bovis* from

bovine lesions. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 18, n. 2, p. 127-134, 1988.

COUSINS, D.V.; FLORISSON, N. A review of tests available for use in the diagnosis of tuberculosis in non-bovine species. **Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)**, Paris, v. 24, n. 3, p. 1039-1059, 2005.

DAHLHAUSEN, B.; SOLER-TOVAR, D.; SAGGESE, M. D. Diagnosis of mycobacterial infections in the exotic pet patient with emphasis on birds. **The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 71-83, 2012.

DE LISLE, G. W.; MACKINTOSH, C. G.; BENGIS, R. G. *Mycobacterium bovis* in free-living and captive wildlife, including farmed deer. **Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)**, Paris, v. 20, n. 1, p. 86-111, 2001.

DE JONG, B. C.; ANTONIO, M.; GAGNEUX, S. *Mycobacterium africanum* - Review of an important cause of human tuberculosis in West Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 4, n. 9, p. e744, 2010.

DEL-POZO, J.; GIRLING, S.; MCLUCKIE, J.; ABBONDATI, E.; STEVENSON, K. An unusual presentation of *Mycobacterium avium* spp. *paratuberculosis* infection in a captive tundra reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*). **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 149, n. 1, p. 126-131, 2013.

ELMOSSALAMI, E.; SIAM, M. A.; EL-SERGANY, M. Studies on tuberculous-like lesions in slaughtered camels. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe B**, Berlin, v. 18, n. 4, p. 253-261, 1971.

EUZÉBY, J. P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the Internet. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 47, n. 2, p. 590-592, 1997.

EUZÉBY, J. P. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature, genus *Mycobacterium***. Aidan C. Parte (Curador, LPSN). data de postagem: 2015. Disponível em <<http://www.bacterio.net/m/mycobacterium.html>>. Acesso em 16 jun. 2015.

FERREIRA, R.; FONSECA, L. D. E. S.; AFONSO, A. M.; DA SILVA, M. G.; SAAD, M. H.; LILENBAUM, W. A report of mycobacteriosis caused by *Mycobacterium marinum* in bullfrogs (*Rana catesbeiana*). **The Veterinary Journal**, London, v. 171, n. 1, p. 177-180, 2006.

FOSTER, S. F.; MARTIN, P.; DAVIS, W.; ALLN, G. S.; MITCHELL, D. H.; MALIK, R. Chronic pneumonia caused by *Mycobacterium thermoresistibile* in a cat. **The Journal of Small Animal Practice**, Oxford, v. 40, n. 9, p. 433-438, 1999.

FREMONT-RAHL, J. J.; EK, C.; WILLIAMSON, H. R.; SMALL, P. L.; FOX, J. G.; MUTHUPALANI, S. *Mycobacterium liflandii* outbreak in a research colony of *Xenopus (Silurana) tropicalis* frogs. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 48, n. 4, p. 856-867, 2011.

GARCIA, M. A.; BOULEY, D. M.; LARSON, M. J.; LIFLAND, B.; MOORHEAD, R.; SIMKINS, M. D.; BORIE, D. C.; TOLWANI, R.; OTTO, G. Outbreak of *Mycobacterium bovis* in a conditioned colony of rhesus (*Macaca mulatta*) and cynomolgus (*Macaca fascicularis*) macaques. **Comparative Medicine**, Memphis, v. 54, n. 5, p. 578-584, 2004.

GARCÍA-BOCANEGRA, I.; BARRANCO, I.; RODRÍGUEZ-GÓMEZ, I. M.; PÉREZ, B.; GÓMEZ-LAGUNA, J.; RODRÍGUEZ, S.; RUIZ-VILLAMAYOR, E.; PEREA, A. Tuberculosis in Alpacas (*Lama pacos*) caused by *Mycobacterium bovis*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 48, v. 5, p. 1960-1964, 2010.

GAUTHIER, D. T. Bacterial zoonoses of fishes: A review and appraisal of evidence for linkages between fish and human infections. **The Veterinary Journal**, London, v. 203, n. 1, p. 27-35, 2015.

GRREN, S. L.; LIFLAND, B. D.; BOULEY, D. M.; BROWN, B. A.; WALLACE, R. J. JR; FERRELL, J. E. JR. Disease attributed to *Mycobacterium chelonae* in South African clawed frogs (*Xenopus laevis*). **Comparative Medicine**, Memphis, v. 50, n. 6, p. 675-679, 2000.

GREER, L. L.; STRANBERG, J. D.; WHITAKER, B. R. *Mycobacterium chelonae* osteoarthritis in a Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*). **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 39, n. 3, p. 736-741, 2003.

GRIFFITH, A. S. Tuberculosis in captive wild animals. **The Journal of Hygiene**, London, v. 28, n. 2, p. 198-218, 1928.

GUMI, B.; SCHELLING, E.; BERG, S.; FIRDESSA, R.; ERENDO, G.; MEKONNEN, W.; HAILU, E.; MELESE, E.; HUSSEIN, J.; ASEFFA, A.; ZINSSTAG, J. Zoonotic transmission of tuberculosis between pastoralists and their livestock in South-East Ethiopia. **EcoHealth**, New York, v. 9, n. 2, p. 139-149, 2012.

HALE, M. J. Mycobacterial infection: a histopathological chameleon. **Current Diagnostic Pathology**, Edinburgh, v. 6, n. 2, p. 93-102, 2000.

HALL-STOODLEY, L.; KEEVIL, C. W.; LAPPIN-SCOTT, H. M. *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* biofilm formation under high and low nutrient conditions. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 85, Suppl 1, p. 60S-69S, 1998.

HAMERTON, A. E. Distribution and comparative morbid anatomy of tuberculosis in captive animals. **British Journal of Tuberculosis**, London, v. 29, n. 3, p. 145-151, 1935.

HARIDY, M.; FUKUTA, M.; MORI, Y.; ITO, H.; KUBO, M.; SAKAI, H.; YANAI, T. An outbreak of *Mycobacterium genavense* infection in a flock of captive diamond doves (*Geopelia cuneata*). **Avian Diseases**, Ithaca, v. 58, n. 3, p. 383-390, 2014(a).

HARIDY, M.; TACHIKAWA, Y.; YOSHIDA, S.; TSUYUGUCHI, K.; TOMITA, M.; MAEDA, S.; WADA, T.; IBI, K.; SAKAI, H.; YANAI, T. *Mycobacterium marinum* infection in Japanese forest green tree frogs (*Rhacophorus arboreus*). **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 151, n. 2-3, p. 277-289, 2014(b).

HENRICH, M.; MOSER, I.; WEISS, A.; REINACHER, M. Multiple granulomas in three squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*) caused by *Mycobacterium microti*. **Journal of Comparative Pathology**, Liverpool, v. 137, n. 4, p. 245-248, 2007.

HERNANDEZ-DIVERS, S. J.; SHEARER, D. Pulmonary mycobacteriosis caused by *Mycobacterium haemophilum* and *M. marinum* in a royal python. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 220, n. 11, p. 1661-1663, 2002.

HIMSWORTH, C. G.; ELKIN, B. T.; NISHI, J. S.; NEIMANIS, A. S.; WOBESER, G. A.; TURCOTTE, C.; LEIGHTON, F. A. An outbreak of bovine tuberculosis in an intensively managed conservation herd of wild bison in the Northwest

Territories. **The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne**, Ottawa, v. 51, n. 6, p. 593-597, 2010.

HOEFSLOOT, W.; VAN INGEN, J.; DE LANGE, W. C. M.; DEKHUIJZEN, P. N. R.; BOEREE, M. J.; VAN SOOLINGEN, D. Clinical relevance of *Mycobacterium malmoense* isolation in the Netherlands. **The European Respiratory Journal**, Sheffield, v. 34, n. 4, p. 926-931, 2009.

HOFFMAN, L. C.; CAWTHORN, D. Exotic protein sources to meet all needs. **Meat Science**, Oxford, v. 95, n. 4, p. 764-771, 2013.

HOOP, R. K. *Mycobacterium tuberculosis* Infection in a Canary (*Serinus canaria* L.) and a BlueFronted Amazon Parrot (*Amazona amazona aestiva*). **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 46, n. 2, p. 502-504, 2002.

HUARD, R. C.; LAZZARINI, L. C. O.; BUTLER, W. R.; VAN SOOLINGEN, D.; HO, J. L. PCR-Based method to differentiate the subspecies of the *Mycobacterium tuberculosis* complex on the basis of genomic deletions. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 4, p. 1637-1650, 2003.

HUARD, R. C.; FABRE, M.; HAAS, P.; LAZZARINI, L. C. O.; VAN SOOLINGEN, D.; COUSINS, D.; HO, J. L. Novel genetic polymorphisms that further delineate the phylogeny of the *Mycobacterium tuberculosis* complex. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 188, n. 12, p. 4271-4287, 2006.

JACKSON, R. K.; JURAS, R. A.; STIEFEL, S. M.; HALL, J. E. *Mycobacterium kansasii* in a rhesus monkey. **Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 39, n. 5, p. 425-428, 1989.

JOHSON, L. K.; LIEBANA, E.; NUNEZ, A.; SPENCER, Y.; CLIFTON-HADLEY, R.; JAHANS, K.; WARD, A.; BARLOW, A.; DELAHAY, R. Histological observations of bovine tuberculosis in lungs and lymph node tissues from British deer. **The Veterinary Journal**, London, v. 175, n. 3, p. 409-412, 2008.

JURCZYNSKI, K.; LYASHCHENKO, K. P.; GOMIS, D.; MOSER, I.; GREENWALD, R.; MOISSON, P. Pinniped tuberculosis in Malayan tapirs (*Tapirus indicus*) and its transmission to other terrestrial mammals. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 42, n. 2, p. 222-227, 2011.

KARLSON, A. G.; SEIBOLD, H. R.; WOLF, R. H. *Mycobacterium abscessus* infection in an owl monkey (*Aotus trivirgatus*). **Pathologia Veterinaria**, Basel, v. 7, n. 5, p. 448-454, 1970.

KIEL, J. L. Reptilian Tuberculosis in a Boa Constrictor. **The Journal of Zoo Animal Medicine**, Washington, v. 8, n. 4, p. 9-11, 1977.

KIM, S. Y.; KIM, M. S.; CHANG, H. E.; YIM, J. J.; LEE, J. H.; SONG, S. H.; PARK, K. U.; SONG, J.; KIM, E. C. Pulmonary infection caused by *Mycobacterium conceptionense*. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 18, n. 1, p. 174-176, 2012.

KOCK, N. D.; KOCK, R. A.; WAMBUA, J.; KAMAU, G. J.; MOHAN, K. *Mycobacterium avium* related epizootic in free ranging lesser flamingos. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 35, n. 2, p. 297-300, 1999.

LACASSE, C.; TERIO, K.; KINSEL, M. J.; FARINA, L. L.; TRAVIS, D. A.; GREENWALD, R.; LYASHCHENKO, K. P.; MILLER, M.; GAMBLE, K. C. Two cases of atypical mycobacteriosis caused by *Mycobacterium szulgai* associated with mortality in captive African elephants (*Loxodonta africana*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 38, n. 1, p. 101-107, 2007.

LANTERI, G.; MARINO, F.; REALE, S.; VITALE, F.; MACRÌ, F.; MAZZULLO, G. *Mycobacterium tuberculosis* in a red-crowned parakeet (*Cyanoramphus novaezelandiae*). **Journal of Avian Medicine and Surgery**, Boca Raton, v. 25, n. 1, p. 40-43, 2011.

LÉCU, A.; BALL, R. Mycobacterial infections in zoo animals: relevance, diagnosis and management. **International Zoo Yearbook**, London, v. 45, n. 1, p. 183-202, 2011.

LEE, C. H.; YOU, H. L.; WANG, J. W.; TANG, Y. F.; LIU, J. W. Prosthetic joint infection caused by *Mycobacterium alvei* in an elderly patient. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 49, n. 8, p. 3096–3098, 2011.

LENNOX, A. M. Mycobacteriosis in companion psittacine birds: a review. **Journal of Avian Medicine and Surgery**. Boca Raton, v. 21, n. 3, p. 181-187, 2007.

LEVI, M. H.; BARTELL, J.; GANDOLFO, L.; SMOLE, S. C.; COSTA, S. F.; WEISS, L. M.; JOHNSON, L. K.; OSTERHOUT, G.; HERBST, L. H. Characterization of *Mycobacterium montefiorensis* sp. nov., a novel pathogenic

Mycobacterium from eel that is related to *Mycobacterium triplex*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 5, p. 2147-2152, 2003.

LEWERIN, S. S.; OLSSON, S. L.; ELD, K.; RÖKEN, B.; GHEBREMICHAEL, S.; KOIVULA, T.; KÄLLENIUS, G.; BÖLSKE, G. Outbreak of *Mycobacterium tuberculosis* infection among captive Asian elephants in a Swedish zoo. **The Veterinary Record**, London, v. 156, n. 6, p. 171-175, 2005.

LEWIS, J. C. M. Cutaneous mycobacteriosis in a Southern sea lion. **Aquatic Mammals**, Moline, v. 13, n. 3, 105-108, 1987.

LOVELL, R. The isolation of tubercle bacilli from captive and wild animals. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, Liverpool, v. 43, p. 205-215, 1930.

MAAS, M.; MICHEL, A. L.; RUTTEN, V.P.M.G. Facts and dilemmas in diagnosis of tuberculosis in wildlife. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 36, n. 3, p. 269-285, 2013.

MACKINTOSH, C. G.; DE LISLE, G. W.; COLLINS, D. M.; GRIFFIN, J. F. Mycobacterial diseases of deer. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 52, n. 4, p. 163-174, 2004.

MARMONTEL, M. *Trichechus inunguis*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.1, 2008. Disponível em <www.iucnredlist.org>. Acesso em 14 jun. 2015.

MALDONADO-CHAPARRO, A.; BLUMSTEIN, D. T. Management implications of capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) social behavior. **Biological Conservation**, Oxford, v. 141, n. 8, p. 1945-1952, 2008.

MAMO, G.; BAYLEYEGN, G.; SISAY TESSEMA, T.; LEGESSE, M.; MEDHIN, G.; BJUNE, G.; ABEBE, F.; AMENI, G. Pathology of camel tuberculosis and molecular characterization of its causative agents in pastoral regions of Ethiopia. **PloS One**, San Francisco, v. 6, n. 1, e15862, 2011.

MANAROLLA, G.; LIANDRIS, E.; PISONI, G.; SASSERA, D.; GRILLI, G.; GALLAZZI, D.; SIRONI, G.; MORONI, P.; PICCININI, R.; RAMPIN, T. Avian mycobacteriosis in companion birds: 20-year survey. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 133, n. 4, p. 323-327, 2009.

MANN, P. C.; MONTALI, R. J.; BUSH, M. Mycobacterial osteomyelitis in captive marsupials. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 181, n. 11, p. 1331-1333, 1982.

MARTÍN-HERNANDO, M. P.; TORRES, M. J.; AZNAR, J.; NEGRO, J. J.; GANDÍA, A.; GORTÁZAR, C. Distribution of lesions in red and fallow deer naturally infected with *Mycobacterium bovis*. **The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, Liverpool, v. 142, n. 1, p. 43-50, 2010.

MARTINHO, F.; HEATLEY, J. J. Amphibian mycobacteriosis. **The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 113–119, 2012.

MARTINO, M.; HUBBARD, G. B.; SCHLABRITZ-LOUTSEVITCH, N. Tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) in a pregnant baboon (*Papio cynocephalus*). **Journal of Medical Primatology**, Basel, v. 36, n. 2, p. 108-112, 2007.

MASON, F. E. Some observations on tuberculosis in camels in Egypt. **The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, Liverpool, v. 25, p. 109-111, 1912.

MASON, F. E. Tuberculosis in camels. **The Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, Liverpool, v. 30, p. 80-84, 1917.

MICHAEL, S. A.; SANGSTER, C. R. Pulmonary mycobacteriosis caused by *Mycobacterium intracellulare* in a Tasmanian devil (*Sarcophilus harrisii*). **Australian Veterinary Journal**, Oxford, v. 88, n. 7, p. 280-282, 2010.

MICHALAK, K.; AUSTIN, C.; DIESEL, S.; BACON, M. J.; ZIMMERMAN, P.; MASLOW, J. N. Mycobacterium tuberculosis infection as a zoonotic disease: transmission between humans and elephants. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 4, n. 2, p. 283-287, 1998.

MICHEL, A. L.; VENTER, L.; ESPIE, I. W.; COETZEE, M. L. *Mycobacterium tuberculosis* infections in eight species at the National Zoological Gardens of South Africa, 1991–2001. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 34, n. 4, p. 364-370, 2003.

MIKOTA, S. K.; MASLOW, J. N. Tuberculosis at the human-animal interface: an emerging disease of elephants. **Tuberculosis**, Edinburgh, v. 91, n. 3, p. 208-211, 2011.

MIKOTA, S. K.; PEDDIE, L.; PEDDIE, J.; ISAZA, R.; DUNKER, F.; WEST, G.; LINDSAY, W.; LARSEN, R. S.; SALMAN, M. D.; CHATTERJEE, D.; PAYEUR, J.; WHIPPLE, D.; THOEN, C.; DAVIS, D. S.; SEDGWICK, C.; MONTALI, R. J.; ZICCARDI, M.; MASLOW, J. Epidemiology and diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* in captive Asian elephants (*Elephas maximus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 32, n. 1, p. 1-16, 2001.

MIRANT-BORDE, M. C.; ALVAREZ, S.; JOHNSON, M. M. *Mycobacterium interjectum* lung infection. **Case Reports in Pulmonology**, New York, v. 2013, ID:193830, 2013 [electronic resource]

MITCHELL, M. A. Mycobacterial infections in reptiles. **The Veterinary Clinics of North America: Exotic animal practice**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 101-111, 2012.

MONTALI, R. J.; BUSH, M.; CROMIE, R.; HOLLAND, S. M.; MASLOW, J. N.; WORLEY, M.; WITEBSKY, F. G.; PHILLIPS, T. M. Primary *Mycobacterium avium* complex infections correlate with lowered cellular immune reactivity in Matschie's tree kangaroos (*Dendrolagus matschiei*). **The Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 178, n. 6, p. 1719-1725, 1998.

MONTALI, R. J.; MIKOTA, S. K.; CHENG, L. I. *Mycobacterium tuberculosis* in zoo and wildlife species. **Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)**, Paris, v. 20, n. 1, p. 291-303, 2001.

MORALES, P.; MADIN, S. H.; HUNTER, A. Systemic *Mycobacterium marinum* infection in an Amazonian manatee. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca 187, n. 11, 1230-1231, 1985.

MORENO GUILLEAN, S.; SANZ HOSPITAL, J.; GOMEZ MAMPASO, E.; GUERRERO ESPEJO, A.; EZPELETA BAQUEDANO, C. Gluteal abscess caused by *mycobacterium flavescens*. **Tubercle**, Edinburgh, v. 67, n. 2, p. 151-153, 1986.

MOSER, I.; PRODINGER, W. M.; HOTZEL, H.; GREENWALD, R.; LYASHCHENKO, K. P.; BAKKER, D.; GOMIS, D.; SEIDLER, T.; ELLENBERGER, C.; HETZEL, U.; WUENNEMANN, K.; MOISSON, P. *Mycobacterium pinnipedii*: Transmission from South American sea lion (*Otaria*

byronia) to Bactrian camel (*Camelus bactrianus bactrianus*) and Malayan tapirs (*Tapirus indicus*). **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 127, n. 3-4, p. 399-406, 2008.

MRLIK, V.; SLANY, M.; KUBECKA, J.; SEDA, J.; NECAS, A.; BABAK, V.; SLANA, I.; KRIZ, P.; PAVLIK, I. A low prevalence of mycobacteria in freshwater fish from water reservoirs, ponds and farms. **Journal of Fish Diseases**, Oxford, v. 35, n. 7, p. 497-504, 2012.

MÜNSTER, P.; FECHNER, K.; VÖLKEL, I.; VON BUCHHOLZ, A.; CZERNY, C. P. Distribution of *Mycobacterium avium* ssp. *paratuberculosis* in a German zoological garden determined by IS900 semi-nested and quantitative real-time PCR. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 163, n. 1-2, p. 116-123, 2013.

MURAI, A.; MURAKAMI, T.; INOUE, M.; UEDA, H.; SHIIHARA, S.; KIMURA, J.; HIRATA, A.; SAKAI, H.; YANAI, T. Pathological Features of *Mycobacterium kansasii* infection in black bearded sakis (*Chiropotes satanas*). **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 147, n. 4, p. 566-569, 2012.

MURAKAMI, P. S.; MONEGO, F.; HO, J. L.; GIBSON, A.; JAVOROUSKI, M. L.; BONAT, M.; LACERDA, O.; BROCKELT, S. R.; BIESDORF, S. M.; NAKATANI, S. M.; RIEDIGER, I. N.; FUVERKI, R. B. N.; VIEIRA, R. F. C.; DO SANTOS, A. P.; DE BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W. Detection of RD^{rio} strain of *Mycobacterium tuberculosis* in tapirs (*Tapirus terrestris*) from a zoo in Brazil. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 43, n. 4, p. 872-875, 2012 (a).

MURAKAMI, P. S.; MONEGO, F.; HO, J. L.; GIBSON, A.; VILAN, R. G.; SORESINI, G. C.; BROCKELT, S. R.; BIESDORF, S. M.; FUVERKI, R. B. N.; NAKATANI, S. M.; RIEDIGER, I. N.; GRAZZIOTIN, A. L.; DO SANTOS, A. P.; DE BARROS FILHO, I. R.; BIONDO, A. W. An outbreak of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in coatis (*Nasua nasua*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 43, n. 2, p. 338-341, 2012 (b).

NAVEDA, A.; DE THOISY, B.; RICHARD-HANSEN, C.; TORRES, D. A.; SALAS, L.; WALLANCE, R.; CHALUKIAN, S.; DE BUSTOS, S. *Tapirus terrestris*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.1, 2008. Disponível em <www.iucnredlist.org>. Acesso em 14 jun. 2015.

NESSAR, R.; CAMBAU, E.; REYRAT, M.; MURRAY, A.; GICQUEL, B. *Mycobacterium abscessus*: a new antibiotic nightmare. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, London, v. 67, n. 4, p. 810-818, 2012.

NIELSEN, K. A.; OWEN, H. C.; MILLS, P. C.; FLINT, M.; GIBSON, J. S. Bacteria isolated from dugongs (*Dugong dugon*) sub-mitted for postmortem examination in Queensland, Australia, 2000–2011 **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 44, n. 1, p. 35-41, 2013.

O'BRIEN, D. J.; SCHMITT, S. M.; FIERKE, J. S.; HOGLE, S. A.; WINTERSTEIN, S. R.; COOLEY, T. M.; MORITZ, W. E.; DIEGEL, K. L.; FITSGERALD, S. D.; BERRY, D. E.; KANEENE, J. B. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* in free-ranging white-tailed deer, Michigan, USA, 1995-2000. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 47-63, 2002.

OEVERMANN, A.; PFYFFER, G. E.; ZANOLARI, P.; MEYLAN, M.; ROBERT, N. Generalized tuberculosis in llamas (*Lama glama*) due to *Mycobacterium microti*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, n. 4, p. 1818-1821, 2004.

OH, P.; GRANICH, R.; SCOTT, J.; SUN, B.; JOSEPH, M.; STRINGFIELD, C.; THISDELL, S.; STALEY, J.; WORMAN-MALCOLM, D.; BORENSTEIN, L.; LEHNKERING, E.; RYAN, P.; SOUKUP, J.; NITTA, A.; FLOOD, J. Human exposure following *Mycobacterium tuberculosis* infection of multiple animal species in a Metropolitan Zoo. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 8, n. 11, p. 1290-1293, 2002.

OLSON, G. A.; WOODARD, J. C. Miliary tuberculosis in a reticulated python. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 164, n. 7, p. 733-735, 1974.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. OMS. **Global Tuberculosis Report 2014**. Disponível em <http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/>. Acesso em 04 jun. 2015.

PATE, M.; SVARA, T.; GOMBAC, M.; PALLER, T.; ZOLNIC-DOVC, M.; EMERSIC, I.; PRODINGER, W. M.; BARTOS, M.; ZDOVC, I.; KRT, B.; PAVLIK, I.; CVETNIC, Z.; POGACNIK, M.; OCEPEK, M. Outbreak of tuberculosis caused by *Mycobacterium caprae* in a Zoological Garden. **Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, Berlim, v. 53, n. 8, p. 387-392, 2006.

PAVLIK, I.; DVORSKA, L.; BARTOS, M.; PARMOVA, I.; MELICHAREK, I.; JESENSKA, A.; HAVELKOVA, M.; SLOSAREK, M.; PUTOVA, I.; MARTIN, G.; ERLER, W.; KREMER, K.; VAN SOOLINGEN, D. Molecular epidemiology of bovine tuberculosis in the Czech Republic and Slovakia in the period 1965–2001

studied by spoligotyping. **Veterinarni Medicina**, Praha, v. 47, n. 7, p. 181-194, 2002.

PAYNE, K. S.; NOVAK, J. J.; JONGSAKUL, K.; IMERBSIN, R.; APISITSAOWAPA, Y.; PAVLIN, J. A.; HINDS, S. B. *Mycobacterium tuberculosis* infection in a closed colony of rhesus macaques (*Macaca mulatta*). **American Association for Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 50, n. 1, p. 105-108, 2011.

PEET, R. L.; DICKSON, J.; NICKELS, D. *Mycobacterium intracellulare* infection in wallabies. **Australian Veterinary Journal**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 215, 1982.

PEZZONE, N.; EBERHARDT, A. T.; FERNÁNDEZ, A.; GARBACCIO, S.; ZUMÁRRAGA, M.; GIOFFRÉ, A.; MAGNI, C.; BELDOMENICO, P. M.; MARINI, M. R.; CANAL, A. M. *Mycobacterium intracellulare* infection in a capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 44, n. 4, p. 1098-1101, 2013.

QUESENBERRY, K. E.; JACOBSON, E. R.; ALLEN, J. L.; COOLEY, A. J. Ulcerative stomatitis and subcutaneous granulomas caused by *Mycobacterium chelonae* in a boa constrictor. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Ithaca, v. 189, n. 9, p. 1131-1132, 1986.

RASTOGI, N., N. LEGRAND, AND C. SOLA. The mycobacteria: an introduction to nomenclature and pathogenesis. **Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)**, Paris, v. 20, n. 1, p. 21-54, 2001.

RHYAN, J.; AUNE, K.; HOOD, B.; CLARKE, R.; PAYEUR, J.; JARNAGIN, J.; STACKHOUSE, L. Bovine tuberculosis in a free-ranging mule deer (*Odocoileus hemionus*) from Montana. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 31, n. 3, p. 432-435, 1995.

ROBINSON, R. C.; PHILLIPS, P. H.; STEVENS, G.; STORM, P. A. An outbreak of *Mycobacterium bovis* infection in fallow deer (*Dama dama*). **Australian Veterinary Journal**, Oxford, v. 66, n. 7, p. 195-197, 1989.

ROCHA, V. C. M.; CORRÊA, S. H. R.; OLIVEIRA, E. M. D.; RODRIGUEZ, C. A. R.; FEDULLO, J. D.; MATRONE, M.; SETZER, A.; IKUTA, C. Y.; VEJARANO, M. P.; FIGUEIREDO, S. M.; FERREIRA NETO, J. S. Tuberculosis determined by *Mycobacterium bovis* in captive waterbucks (*Kobus ellipsiprymnus*) in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 2, p. 726-728, 2011(a).

ROCHA, V. C. M.; IKUTA, C. Y.; GOMES, M. S.; QUAGLIA, F.; MATUSHIMA, E. R.; FERREIRA NETO, J. S. Isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from captive *Ateles paniscus*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 11, n. 5, p. 593-594, 2011(b).

ROCHA, V. C. M.; CORRÊA, S. H. R.; SETZER, A. P.; CATÃO-DIAS, J. L.; RAMOS, M. C.; FIORI, W.; IKUTA, C. Y.; FERREIRA NETO, J. S. *Mycobacterium kansasii* isolation from captive South American coati (*Nasua nasua*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 44, n. 1, p. 167-168, 2013.

RODRIGUEZ-CAMPOS, S.; SMITH, N. H.; BONIOTTI, M. B.; ARANAZ, A. Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine tuberculosis. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 97, suppl. S5–S19, 2014.

ROUTH, A. Managing mycobacteriosis and associated biosecurity in the care and breeding of threatened freshwater fishes in public aquariums: an overview. **International Zoo Yearbook**, London, v. 47, n. 1, p. 102-111, 2013.

SAKAMOTO, K. The Pathology of *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Veterinary Pathology**, Thousand Oaks, v. 49, n. 3, p. 423-439, 2012.

SATO, T.; SHIBUYA, H.; OHBA, S.; NOJIRI, T.; SHIRAI, W. Mycobacteriosis in two captive Florida Manatees (*Trichechus manatus latirostris*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 32, n. 2, p. 184-188, 2003.

SCHLUGER, N. W. The Pathogenesis of Tuberculosis. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York, v. 32, n. 4, p. 251-256, 2005.

SCHMIDT, V.; SCHENEIDER, S.; SCHLOMER, J.; KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E.; RICHTER, E. Transmission of tuberculosis between men and pet birds: a case report. **Avian Pathology**, London, v. 37, n. 6, p. 589-592, 2008.

SCHRENZEL, M. D. Molecular epidemiology of mycobacteriosis in wildlife and pet animals. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Philadelphia, v. 15, n. 1, p. 1-23, 2012.

SCHOON, H. A.; SCHOON, D.; KIRPAL, G.; RICHTER, E.; GERDES, J.; WEISS, R.; DRESSEN, W. Enzootic *Mycobacterium avium* infection in captive Parma wallabies (*Macropus parma*) with unusual spinal cord manifestations. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 108, n. 3, p. 311-316, 1993.

SEPTEMBER, S. M.; BRÖZEL, V. S.; VENTER, S. N. Diversity of nontuberculous *Mycobacterium* species in biofilms of urban and semiurban drinking water distribution systems. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 70, n. 12, p. 7571-7573, 2004.

SILVA ADEL, P.; LEON, C. I.; GUERRERO, M. I.; NEIRA, R.; ARIAS, L.; RODRIGUEZ, G. Avian tuberculosis of zoonotic importance at a zoo on the Bogotá Andean plateau (Sabana). **The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne**, Ottawa, v. 50, n. 8, p. 841-845, 2009.

SLANY, M.; KNOTEK, Z.; SKORIC, M.; KNOTKOVA, Z.; SVOBODOVA, J.; MRLIK, V.; MORAVKOVA, M.; PAVLIK, I. Systemic mixed infection in a brown caiman (*Caiman crocodilus fuscus*) caused by *Mycobacterium szulgai* and *M. chelonae*: a case report. **Veterinarni Medicina**, Praha, v. 55, n. 2, p. 91-96, 2010.

SOAVE, O.; JACKSON, S.; GHUMMAN, J. S. Atypical mycobacteria as the probable cause of positive tuberculin reactions in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). **Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 31, n. 3, p. 295-296, 1981.

SOMOSKOVI, A.; SALFINGER, M. Nontuberculous mycobacteria in respiratory infections: advances in diagnosis and identification. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 34, n. 2, p. 271-295, 2014.

STEINMETZ, H. W.; RUTZ, C.; HOOP, R. K.; GREY, P.; BLEY, C. R.; HATT, J. M. Possible human-avian transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in a green-winged macaw (*Ara chloroptera*). **Avian Diseases**, Kennett Square, v. 50, n. 4, p. 641-645, 2006.

STERNBERG, S.; BERNODT, K.; HOLMSTRÖM, A.; RÖKEN, B. Survey of tuberculin testing in Swedish zoos. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 33, n. 4, p. 378-380, 2002.

SUYKERBUYK, P.; VLEMINCKX, K.; PASMANS, F.; STRAGIER, P.; ABLORDEY, A.; TRAN, H. T.; HERMANS, K.; FLEETWOOD, P.; MEYER, W. M.; PORTAELS, F. *Mycobacterium liflandii* infection in European colony of *Silurana tropicalis*. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 5, p. 743-746, 2007.

TELENTI, A.; MARCHESI, F.; BALZ, M.; BALLY, F.; BÖTTGER, E. C.; BODMER, T. Rapid identification of mycobacteria to the species level by polymerase chain reaction and restriction enzyme analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 31, n. 2, p. 175-178, 1993.

THOREL, M. F. Isolation of *Mycobacterium africanum* from monkeys. **Tubercle**, Edinburgh, v. 61, n. 2, p. 101-104, 1980.

TORANZO, A. E.; MAGARIÑOS, B.; ROMALDE, J. L. A review of the main bacterial diseases in mariculture systems. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 246, n. 1-4, p. 37-61, 2005.

TROTT, K. A.; STACY, B. A.; LIFLAND, B. D.; DIGGS, H. E.; HARLAND, R. M.; KHOKHA, M. K.; GRAMMER, T. C.; PARKER, J. M. Characterization of a *Mycobacterium ulcerans*-like infection in a colony of African tropical clawed frogs (*Xenopus tropicalis*). **Comparative Medicine**, Memphis, v. 54, n. 3, p. 309-317, 2004.

TSUKAMURA, M.; YAMO, I.; IMAEDA, T. *Mycobacterium moriokaense* sp. nov., a rapidly growing, nonphotochromogenic *Mycobacterium*. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 36, n. 2, p. 333-338, 1986.

TWOMEY, D. F.; CRAWSHAW, T. R.; ANSCOMBE, J. E.; FARRANT, L.; EVANS, L. J.; MCELLIGOTT, W. S.; HIGGINS, R. J.; DEAN, G.; VORDERMEIER, M.; JAHANS, K.; DE LA RUA-DOMENECH, R. TB in llamas caused by *Mycobacterium bovis*. **The Veterinary Record**, London, v. 160, n. 5, p. 170, 2007.

TWOMEY, D. F.; CRAWSHAW, T. R.; ANSCOMBE, J. E.; BARNETT, J. E. F.; FARRANT, L.; EVANS, L. J.; MCELLIGOTT, W. S.; HIGGINS, R. J.; DEAN, G. S.; VORDERMEIER, H. M.; DE LA RUA-DOMENECH, R. Assessment of *antemortem* tests used in the control of an outbreak of tuberculosis in llamas (*Lama glama*). **The Veterinary Record**, London, v. 167, n. 13, p. 475-480, 2010.

UNE, Y.; MORI, T. Tuberculosis as a zoonosis from a veterinary perspective. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, Oxford, v. 30, n. 5-6, p. 415-425, 2007.

VAN SOOLINGEN, D.; DE HAAS, P. E. W.; HERMANS P. W. M.; VAN EMBDEN, J. D. A. DNA fingerprinting of *Mycobacterium tuberculosis*. **Methods in Enzymology**, New York, v. 235, p. 196-205, 1994.

VERVENNE, R. A.W.; JONES, S. L.; VAN SOOLINGEN, D.; VAN DER LAAN, T.; ANDERSEN, P.; HEIDT, P. J.; THOMAS, A. W.; LANGERMANS, J. A.M. TB diagnosis in non-human primates: comparison of two interferon- γ assays and the skin test for identification of *Mycobacterium tuberculosis* infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 100, n. 1-2, p. 61-71, 2004.

WACHTMAN, L. M.; MILLER, A. D.; XIA, D.; CURRAN, E. H.; MANSFIELD, K. G. Colonization with nontuberculous mycobacteria is associated with positive tuberculin skin test reactions in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). **Comparative Medicine**, Memphis, v. 61, p. 3, p. 278-284, 2011.

WALTZEK, T. B.; CORTÉS-HINOJOSA, G.; WELLEHAN JR, J. F.; GRAY, G. C. Marine mammal zoonoses: a review of disease manifestations. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 59, n. 8, p. 521-535, 2012.

WARREN, R. M.; GEY VAN PITTIUS, N. C.; BARNARD, M.; HESSELING, A.; ENGELKE, E.; DE KOCK, M.; GUTIERREZ, M. C.; CHEGE, G. K.; VICTOR, T. C.; HOAL, E. G.; VAN HELDEN, P. D. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex by PCR amplification of genomic regions of difference. **The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, Paris, v. 10, n. 7, p. 818-822, 2006.

WATERS, W. R.; MAGGIOLI, M. F.; MCGILL, J. L.; LYASHCHENKO, K. P.; PALMER, M. V. Relevance of bovine tuberculosis research to the understanding of human disease: Historical perspectives, approaches, and immunologic mechanisms. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 159, n. 3-4, p. 113-132, 2014.

WELLS, S. K.; GUTTER, A.; VAN METER, K. Cutaneous mycobacteriosis in a Harbor Seal: attempted treatment with hyperbaric oxygen. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v. 21, n. 1, p. 73-78, 1990.

WERNERY, U.; KINNE, J.; JAHANS, K. L.; VORDERMEIER, H. M.; ESFANDIARI, J.; GREENWALD, R.; JOHNSON, B.; UL-HAQ, A.; LYASHCHENKO, K. P. Tuberculosis outbreak in a dromedary racing herd and rapid serological detection of infected camels. **Veterinary Microbiology**. Amsterdam, v. 122, n. 1-2, p. 108-115, 2007.

WERNERY, U.; KINNE, J. Tuberculosis in camelids: a review. **Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)**, Paris, v. 31, n. 3, p. 899-906, 2012.

WILBUR, A. K.; ENGEL, G. A.; ROMPIS, A.; A PUTRA, I. G.; LEE, B. P.; AGGIMARANGSEE, N.; CHALISE, M.; SHAW, E.; OH, G.; SCHILLACI, M. A.; JONES-ENGEL, L. From the mouths of monkeys: detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA from buccal swabs of synanthropic macaques. **American Journal of Primatology**, New York, v. 74, n. 7, p. 676-686, 2012.

WILLEMSE, T.; GROOTHUIS, D. G.; KOEMAN, J. P.; BEYER, E. G. *Mycobacterium thermoresistibile*: extrapulmonary infection in a cat. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 21, n. 5, p. 854-856, 1985.

WILLSON, S. J.; KAUFMAN, M. G.; MERRITT, R. W.; WILLIAMSON, H. R.; MALAKAUSKAS, D. M.; BENBOW, M. E. Fish and amphibians as potential reservoirs of *Mycobacterium ulcerans*, the causative agent of Buruli ulcer disease. **Infection Ecology & Epidemiology**, Stockholm, v. 3. doi: 10.3402/iee.v3i0.19946, 2013. [electronic resource].

WILSON, P.; WEAVERS, E.; WEST, B.; TAYLOR, M.; KAVANAGH, J.; JONES, P. *Mycobacterium bovis* infection in primates in Dublin Zoo: epidemiological aspects and implications for management. **Laboratory Animals**, London, v. 18, n. 4, p. 383-387, 1984.

WILTON, S.; COUSINS, D. Detection and identification of multiple mycobacterial pathogens by DNA amplification in a single tube. **PCR Methods and Applications**, Cold Spring Harbor, v. 1, n. 4, p. 269-273, 1992.

ZANOLARI, P. ; ROBERT, N.; LYASHCHENKO, K. P.; PFYFFER, G. E.; GREENWALD, R.; ESFANDIARI, J.; MEYLAN, M. Tuberculosis caused by *Mycobacterium microti* in South American camelids. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, Philadelphia, v. 23, n. 6, p. 266-272, 2009.

ZUMPE, D.; SILBERMAN, M. S.; MICHAEL, R. P. Unusual outbreak of tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in a closed colony of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). **Laboratory Animal Science**, Memphis, v. 30, n. 2.1, p. 237-240, 1980.

Tabela do Shell vial realizado

Amostra	Espécie	Sexo	PCR	Isolado	Identificação
40	<i>A. triste</i>	F	+	+	<i>R. parkeri</i>
63	<i>A. parvum</i>	F	-	-	-
41	<i>A. triste</i>	F	-	-	-
45	<i>A. triste</i>	F	+	+	<i>R. parkeri</i>
74	<i>A. parvum</i>	F	+	+	<i>R. bellii</i>
99	<i>A. parvum</i>	M	+	+	<i>R. bellii</i>
42	<i>A. triste</i>	F	-	-	-
90	<i>A. tigrinum</i>	F	-	-	-
203	<i>A. triste</i>	F	-	-	-
252	<i>A. triste</i>	F	+	+	<i>R. parkeri</i>
64	<i>A. parvum</i>	F	-	-	-
281	<i>A. triste</i>	F	+	+	<i>R. parkeri</i>
289	<i>A. triste</i>	M	+	+	<i>R. parkeri</i>
77	<i>A. triste</i>	M	-	-	-
80	<i>A. tigrinum</i>	F	-	-	-
178	<i>A. triste</i>	F	-	-	-
192	<i>A. triste</i>	F	-	-	-
65	<i>A. parvum</i>	F	-	-	-
100	<i>A. parvum</i>	M	-	-	-
102	<i>A. parvum</i>	M	+	+	<i>R. bellii</i>
136	<i>A. parvum</i>	M	+	+	<i>R. bellii</i>
191	<i>A. triste</i>	F	-	-	-

Tabela de cima organizada

Tabela : Número de espécies submetidas a técnica de shell vial e resultados positivos.

Espécie	N testado	N positivo
<i>A. triste</i>	12	5
<i>A. parvum</i>	8	4
<i>A. tigrinum</i>	2	0
Total	22	9