ISOLAMENTO DE *Mycobacterium lentiflavum* EM PRIMATAS NÃO HUMANOS MANTIDOS EM CATIVEIRO.

Amâncio FH1, Santos ACB2, Prince KA2, Cruvinel TMA3, Cruvinel CAT3, Guerra Neto G4, Silva CS5, Pachaly JR6, Leite CQF2, Pandolfi JR1,2 *.

1. UNICASTELO – Descalvado; 2. FCF, UNESP – Araraquara, SP, 3. UNIRP, S. J. R. Preto, SP, 4. Med. Vet. Autônomo, 5. FCAV, UNESP – Jaboticabal, SP, 6. UNIPAR, Curitiba, PR

*josepandolfigmail.com

RESUMO

O *Mycobacterium lentiflavum* é uma micobactéria de crescimento lento, pigmentada, caracterizada por resistência múltipla a drogas antimicobacterianas. Descrita em 1996, está em evidência por causar sérias infecções em pacientes imunossuprimidos. Entretanto infecção pulmonar crônica foi relatada em paciente imunocompetente. O ambiente de zoológico é propício à disseminação de doenças, apesar de rigoroso manejo sanitário. A proximidade de visitantes e tratadores aos animais criados em zoológicos favorece a transmissão de várias enfermidades. Assim, monitorar a sanidade destes animais é crucial para a tomada de medidas na prevenção e controle de doenças em animais e no homem. Neste sentido, fez-se a pesquisa de micobactérias em 19 primatas não humanos, mantidos em cativeiro, no Bosque municipal Fábio Barreto, de Ribeirão Preto, SP. Sob contenção química, os animais foram inoculados com PPD bovino e amostras clínicas foram colhidas da cavidade nasal, orofaringe e traquéia e inoculadas em 7H9 enriquecido com OADC e antibióticos - PANTA (BBL MGIT). Os resultados do PPD foram negativos. O material foi incubado a 30°C e, após a turvação do meio, fez-se o estudo das amostras pela técnica de PCR PRA. A confirmação do isolamento de *M. lentiflavum* foi feita em 14 animais. Isto pode implicar em problemas sanitários para estes animais, geralmente sob estresse constante, bem como aos humanos que entrarem em contato com eles. Este foi o primeiro isolamento desta bactéria em animais.

INTRODUÇÃO

O avanço da agricultura e da pecuária próximo às áreas naturais proporcionou um contato entre as populações humanas e de seus animais domésticos com as populações de animais silvestres nos seus habitats, o que facilitou a disseminação de agentes infecciosos e parasitários para novos hospedeiros e ambientes, estabelecendo assim novas relações entre hospedeiros e parasitas, e novos nichos ecológicos na cadeia de transmissão das doenças (CORRÊA e PASSOS, 2001). Como conseqüências dessas interações negativas podem ocorrer zoonoses com expansão epidêmica de animais suscetíveis e o aumento da sua disseminação geográfica (BARLETT e JUDGE, 1997). A própria definição de zoonoses como “doenças ou infecções que se transmitem naturalmente entre os animais vertebrados e o homem, ou vice-versa” já denota a possível importante participação dos animais silvestres na manutenção destas doenças na natureza. Além disso, enfermidades que não eram conhecidas ou que já não possuíam importância epidemiológica, contudo, apareceram em surtos ou epidemias numa população e região, vindo a ser denominadas como “emergentes” (SILVA, 2005).

Acha e Szyfres (1986) descreveram os fatores abaixo como os principais condicionantes para difusão dos fatores de risco existentes nos focos naturais, com possibilidades de estabelecer processos zoonóticos: a) introdução de animais domésticos e/ou homem em um foco natural; b) translocação de um hospedeiro infectado a um novo biótipo, onde existam hospedeiros suscetíveis; c) modificação da dinâmica dos hospedeiros ou alteração do equilíbrio ecológico; d) falta de alimento, o que obriga os animais reservatórios a translocar-se a outras biocenoses; e) intervenção

do homem na modificação dos ecossistemas; f) mutações positivas no processo epidêmico do agente etiológico, facilitando sua disseminação; g) intervenção das aves migratórias e dos vetores.

Apesar dos esforços dos profissionais na manutenção de um rigoroso manejo sanitário, o ambiente de zoológico continua sendo propício à disseminação de uma gama de doenças, muitas delas zoonóticas (SEDGWICK et al., 1975; MONTALI e MIGAKI, 1980; SIEMERING, 1986; FOWLER, 1993; SILVA et al. 2001). Isto também pode ser aplicado aos outros estabelecimentos que possuem animais silvestres. Vale a pena salientar que estes animais, em quase totalidade mascaram os sinais clínicos, mesmo estando infectados com agentes etiológicos, constituindo importantes fontes de infecção para os animais domésticos e o homem ou vice-versa (ACHA & SZYFRES, 1986; FOWLER, 1986; CUBAS, 1996).

A tuberculose é um dos mais relevantes problemas de saúde pública no mundo (SNIDER et al. 1994), sendo considerada em sua essência uma "epidemia lenta", apesar da evolução do conhecimento na área de Saúde Pública e dos novos métodos de diagnóstico disponíveis, ressurge nos dias de hoje como uma "emergência global" (PAULA, 1988).

A tuberculose é provocada por micobactérias aeróbias estritas, em forma de bastonetes imóveis, que se caracterizam por não formarem esporos, por não possuírem cápsulas ou flagelos e por serem álcool-ácido resistentes. As principais espécies de importância epidemiológica para o homem pertencem ao complexo *M. tuberculosis*, que compreende: o *Mycobacterium tuberculosis*, o *Mycobacterium bovis*, o *Mycobacterium microti* (patogênico apenas para a ratazana – *Microtis agrestis*), o *Mycobacterium africanum* (ainda não isolado no Brasil) e o *Mycobacterium canettii*, não patogênico para o homem (CORNER, 1994; ABRAHÃO, 1998; BROSCH et al., 2002; DUCATI et al., 2004).

Dentre as espécies de micobactérias não tuberculosas (RUNYON, 1959), as mais estudadas são as do complexo *M. avium-intracellulare* (MAC) e *M.kansasii* (INDERLIED et al. 1993, EVANS et al. 1996, MIJS et al. 2002, BIET et al. 2005). *M. avium* é subdividido em quatro subespécies: *M. avium avium, M. avium paratuberculosis, M. avium silvaticum* e, recentemente, *M. avium hominissuis* (MIJS et al. 2002, BIET et al. 2005). *M. avium* é o agente da tuberculose em várias espécies de aves, e o complexo *M. avium intracellulare* está associado aos quadros de linfadenites granulomatosas em suínos e as bactérias desse complexo não são patogênicas para os bovinos e bubalinos, com exceção de *M. avium paratuberculosis* causador da doença de Johne (BIET et al. 2005), raramente encontrada no Brasil (RIET- CORREA 1998, DRIEMEIER et. al. 1999). Entretanto, provocam reações inespecíficas à tuberculinização, dificultando o diagnóstico da tuberculose nessas espécies (BRASIL, 2003).

As micobactérias têm importância única na medicina de animais silvestres sendo responsável pela maior causa de mortalidade em zoológicos no século passado (FOWLER, 2003).

Dentre os animais em cativeiro o *M. tuberculosis* é o mais comumente responsabilizado (GRINNER, 1983), porém ALEXANDER et al (2002) relatou suricatas de vida livre que foram infectadas pelo patógeno através da exposição humana advindo do ecoturismo. *M. bovis* também é extensivamente documentado em selvagens cativos e de vida livre (BENGIS, 2000) inclusive sendo isolado também em tratadores de animais em zoológicos (DALOVISIO et al, 1992).

Há diversos relatos incriminando esses agentes como responsáveis pela morte de animais como girafas, antílopes, cervos, camelos, primatas, bisões, elefantes, tigres e leões em zoológicos no exterior (FOWLER, 1986) e na fauna sul-americana em quatis, queixadas, antas e tamanduás (FOWLER, 1986; FROLKA, 1989) sendo que no Brasil foram relatados casos em antas (SANTOS et al, 1981) e em primatas (DINIZ et al, 1993).

O estudo das populações de primatas não-humanos tem contribuído para informações sobre doenças infecciosas emergentes, pois como membros de habitats biologicamente diversos eles atuam como sentinelas para investigação de patógenos, servindo de modelos para a pesquisa básica sobre a dinâmica de transmissão natural (WOLFE et al. 2000).

Em primatas mantidos em zoológicos, a tuberculose é indicada como uma das mais importantes enfermidades provocando considerável índice de mortalidade nesta ordem, sendo o ser humano

denominado como a principal fonte de infecção (DILLEHAY, 1990; MICHEL & HUCHZERMEYER, 1998). A doença em geral resulta da infecção pelo *Mycobacterium tuberculosis* ou *Mycobacterium bovis* (CALLE et al, 1989).

A moléstia ocorre habitualmente na forma pulmonar com formação de granulomas caseosos, denominados tubérculos, disseminados pelo parênquima do órgão e nos tecidos periféricos como no mediastino e a calcificação é rara (JONES et al, 1997). As lesões primárias são denominadas de linfoadenopatias e podem estar presentes em formas cutâneas, pulmonares e gastrointestinais sendo que na infecção cutânea há fistulação e drenagem de liquido supurativo (TURY, 1998). As lesões pulmonares são facilmente confundidas com demais lesões respiratórias como a pneumonia, por exemplo, sendo que os processos tuberculóticos podem provocar alterações vasculares e formação de trombos. (SCHOEB, 1990; TURY, 1998).

O diagnóstico é realizado pelo de teste de tuberculinização com a inoculação intrapalpebral superior esquerda de tuberculina mamífera (TURY, 1998) sendo reagente quando da presença de edema local após 24, 48 e 72 horas e em caso de dúvida repete-se o exame após 30-40 dias. (DINIZ, 1997).

A análise de fluidos corporais, como lavado traqueal, aliada a exames radiográficos do tórax, ajuda a diferenciar de outras patologias (SCHOEB, 1990).

A cultura micobacteriana é importante, para não dizer essencial, no fechamento do diagnóstico. O exame *post mortem* inclui necropsia, histopatologia e cultivo de bactérias. (TURY, 1998). Recomenda-se que todo animal positivo seja eutanasiado para eliminação da fonte de infecção (DINIZ, 1993).

OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo geral estudar a ocorrência de tuberculose e/ou outras micobacterioses em um grupo de primatas cativos, através de: 1. Teste de sensibilidade a proteína purificada derivada (PPD) bovina e aviária; 2. Isolamento de micobactérias em meios de cultivo líquido (7H9) e 3. Identificação das amostras de cultura positivas através da técnica da Reação da polimerase em cadeia seguida da análise dos amplificados por restrição (PCR-PRA).

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi desenvolvido em amostras colhidas de animais mantidos no Bosque Zoológico Fábio de Sá Barreto localizado na cidade de Ribeirão Preto, SP que foram analisadas no Laboratório de Micobactérias da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Araraquara, SP.

Caracterização da população estudada:

Os primatas do local possuem origens e procedências diversas: a) apreensão, por meio dos órgãos competentes, provenientes de tráfico de animais silvestres em situações de ilegalidade ou abandono; b) captura de primatas de vida livre; c) por meio de doações de proprietários particulares ou Instituições com animais excedentes; d) reprodução em cativeiro.

Em outubro de 2006 foram estudados 19 primatas de cinco espécies distintas com intenção de realizar um manejo sanitário e estudo epidemiológico dos mesmos.

Contenção: Considerando a idade e o tamanho do animal, foi realizada a contenção física e química procurando-se minimizar o estresse no momento da contenção. Os materiais utilizados na contenção física foram luvas de couro, puçás e caixa de transporte.

Para a contenção farmacológica, utilizou-se o cloridrato de tiletamina/zolazepam associado ao cloridrato de xilazina e atropina ou somente a associação cloridrato de tiletamina/zolazepam. Nos animais em que o cloridato de xilazina foi utilizado ocorreu a reversão dos efeitos com ioimbina.

Estudo de sensibilidade a PPD: Aplicação de tuberculina: Foi realizado o de teste de tuberculinização (estudo de sensibilidade a PPD) com a inoculação intrapalpebral superior utilizando-se seringas e agulhas estéreis de um mililitro onde adotou-se como protocolo o volume de 0,1 mililitro de tuberculina mamífera PPD bovina na pálpebra superior esquerda e o mesmo volume de tuberculina PPD aviária na pálpebra superior direita.

A leitura da reação deu-se por observação visual sendo reagente quando da presença de edema local após 24, 48 e 72 horas. Todas as alterações foram relatadas em uma ficha descritiva.

Isolamento e cultivo de micobactérias: O isolamento foi feito através de colheita de material da cavidade nasal, da orofaringe e da traquéia, com a utilização de "swabs" estéreis. A amostra foi colocada em meio 7H9 enriquecido com OADC e antibióticos – PANTA (BBL MGIT), que foi incubado a 30°C, até a turvação do meio.

Diagnóstico molecular de *M. tuberculosis* pela técnica de PCR: As culturas foram submetidas a técnica de PCR, empregando pares de oligonucleotídeos iniciadores que amplificam especificamente fragmentos de 245pb contidos na seqüência de inserção IS6110 de *Mycobacterium tuberculosis* descritos por van Embden *et al*., (1993): - "PRIMER" INS1: CgTgAgggCATCgAggTggC e - "PRIMER" INS2: gCg TAggCgTCggTgACAAA. Para tal, 2,0 µL de amostra foram submetidos a amplificação sob as seguintes condições: em tubos de 0,2 mL foram acrescentados 2,5 µL de tampão de PCR 10 x, 0,5 µL de dNTPs (10 mM cada), 0,6 µL de 5 µM de cada oligonucleotídeo iniciador (INS1 e INS2), 0,5 µL de Taq DNA - polimerase (Invitrogen número de cat. 11615-028) e água ultrapura estéril até completar o volume de 25µL.

Identificação das micobactérias isoladas - PCR-PRA: TÉCNICA DE PCR (Amplificação do fragmento de 439 bp do gene hsp 65) A amplificação é obtida com a utilização dos oligonucleotídeos iniciadores ("primers") Tb11 e Tb12. **"Primers" Utilizados**: Tb11- 5' ACCAACGATGGTGTGTCCAT 3' e Tb12- 5' CTTGTCGAACCGCATACCCT 3'

Técnica de PCR: Supermix 23µL para cada amostra; "Primers" Tb11 0,25µL para cada amostra; Tb12 0,25µL para cada amostra; A mistura reativa foi preparada em microtubo separado. A 23µL desta mistura foi adicionado 2µL da amostra de cultura líquida, em tubos distintos. Eles foram então levados ao termociclador de modelo PTC 100 (MJ Research) e amplificados em 45 ciclos, durante cerca de 3 horas. Após amplificação, as amostras foram submetidas ao procedimento de eletroforese em gel de agarose a 1% (TBE 0,5%), coradas com brometo de etídeo, e fotografadas com equipamento de fotodocumentação AlphaImager 2200 (AlphaInnotech Corporation) que permite a digitalização da imagem do gel. As amostras que apresentaram amplificação foram digeridas com as endonucleases de restrição BstE II ou Hae III, separadas por eletroforese em gel de agarose a 4% (TBE 0,5%), coradas com brometo de etídeo, e fotografadas com equipamento de fotodocumentação AlphaImager 2200 (AlphaInnotech Corporation) que permite a digitalização da imagem do gel A figura gerada foi então analisada com o auxílio de ferramentas de bioinformática disponíveis na internet (PRASITE - http://app.chuv.ch/prasite/index.html).

RESULTADOS

Estudo de sensibilidade a PPD: Nenhum animal apresentou edema palpebral considerável nos testes de hipersensibilidade. Alguns apresentaram ligeiro edema na região frontal, considerado não significativo.

Isolamento das micobactérias: O isolamento de micobactérias foi confirmado em 15 animais.

Diagnóstico molecular de *M. tuberculosis* pela PCR: Todas as amostras que apresentaram turvação do meio de cultura, não apresentaram qualquer amplificado pela PCR, sendo portanto consideradas negativas para *M. tuberculosis*.

Identificação das micobactérias isoladas - PCR-PRA: As amostras inoculadas, que apresentaram turvação do meio, foram analisadas por PCR-PRA. Através desta técnica observou-se que todas as amostras positivas foram identificadas como *M. lentiflavum*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O isolamento de micobactérias não tuberculosas em animais selvagens em cativeiro alerta para a importância destes como fonte de infecção para seres humanos, como tratadores, visitantes, biólogos e veterinários.

Assim, apesar de à primeira vista, não apresentar significado clínico para os animais, este achado deve servir como alerta para o emprego de estratégias de manejo sanitário que ofereçam melhores condições de higiene e saúde para estes animais. Ademais, o trabalho indica a necessidade da pesquisa de micobactérias em outras fontes no zoológico, como a água tratada servida aos animais, por exemplo.

O *M. lentiflavum* é uma micobactéria de crescimento lento, pigmentada, caracterizada por resistência múltipla a drogas antimicobacterianas. Descrita em 1996, está em evidência por causar sérias infecções em pacientes imunossuprimidos. Entretanto infecção pulmonar crônica foi relatada em um paciente humano imunocompetente, o que a caracteriza como um patógeno emergente.

Assim, a presença de *M. lentiflavum* em amostras de animais selvagens, em cativeiro, pode implicar em problemas sanitários para estes animais, que vivem sob estresse constante, e dessa forma também para os humanos que por ventura venham a entrar em contato com eles.

Este foi o primeiro relato de isolamento de *M. lentiflavum* em animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, R.M.C.M. **Tuberculose humana causada pelo Mycobacterium bovis: considerações gerais e a importância dos reservatórios animais** . 1998. 273p. Dissertação(Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998. .

ACHA,P.N.; SZYFRES,B. **Zoonosis y enfermidades transmisibles comunes al hombre y animales**.2.ed. Washington: Organization Panamericana de la Salud, 1986

ALEXANDER, K.A.; PLEYDELL, E; WILLIANS, M.C.; LANE, E.P.; NYANGE,J.F.C.; MICHEL,A.L. Micobacterym tuberculosis: An Emerging Disease of Free-Ranging Wildlife. **Emerging Infectious Diseases**. Vol 8, nº 6, june 2002

AURICCHIO, P. **Primatas do Brasil**. São Paulo: Terra Brasilis, 1995, 167p.

AYRES, J.M., DEUTSCH, L.A. Os macacos da região amazônica. **Geográfica Universal**. p.71-82, 1982

BARLETT, P.C.; JUDGE, L.J. The role of epidemiology in public health. **Office International des Epizooties Scientific and Technical Review** , v. 16, n. 2, p. 331-336, 1997.

BENGIS, R. Tuberculosis in free-ranging mammals. In Fowler M. Miller RE, editors. **Zoo and wildlife medicine : current therapy 4.** Philadelphia:W.B. Saunders Company;2000 p.101-113

BIET, F., BOSCHIROLI, M.L., THOREL, M.F.. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC). A Review. **Vet Res**. 36:411-436. 2005

BRASIL. Manual técnico do programa nacional de controle e erradicação da brucelose e da tuberculose animal - PNCEBT. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**, Brasília. 126p. ,2003

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS),. Manual de Normas para o Controle da Tuberculose. **Coordenação Nacional de Pneumologia Sanitária**. Brasília. 1995.

BROSCH, R.; GORDON, S.V; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIER ,K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PARSONS, L. M.; PYM, A. S.; SAMPER, S.; VAN SOLLIGEN, D.; COLE, A. A new evolutionary scenario for the Mycobacterium tuberculosis complex. **Proccedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v.99, n.6, p.3684-3689,2002.

CALLE, P.P.; THORN, C.O.; ROSKOP, M.I. Tuberculine skin test responses, mycobacteriologic examinations of gastric lavage and serum enzyme linked immunosorbent assay in Orangutans (*Pongo pygamacus*). **Zoo wildlife medicine**. V.20 p.307-324, 1989.

COLE, S. T.; TELENTI, A. Drug resistance in mycobacterium tuberculosis. **European Respiratoy Journal**, v. 8, n. 20, p. 701s-713s, 1995.

CORNER, L.A. Post mortem diagnosis of Mycobacterium bovis infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, v.40, p.53-63, 1994.

CORRÊA, S.H.R.; PASSOS, E.C. Wild animals and public health. *In*: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S.**Biology, medicine, and surgery of South American wild animals** . Ames: Iowa University Press, p.493-499, 2001.

CUBAS, Z.S. Special challenges of maintaining wild animals in captivity in South America. **Office International des Epizooties Scientific and Technical Review**, v. 15, n. 1, p. 267-287, 1996.

DALOVISIO, J.K.; STETTEK,M; MIKOTA-WEELS,S. 1992 Mycobacterium tuberculosis bovis in zookeepers. **Clinical infectious disease**, 15, 4, 598-600

DILLEHAY,D.L., HUERKAMO, M.J. Tuberculosis in a tuberculin-negative rhesus monkey (*Macaca nukatta)* on chemoprophylaxis. **Journal of zoo and wildlife medicine,** v21, p.480-484, 1990.

DINIZ, L.S.M., COSTA, E.U., FAVA NETTO, C, DAGLI, M.L.Z. 1993. Tuberculose em Cebus sp (macaco prego) mantidos expos tos em cativeiro. ANAIS. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 46º SBPC, 9-A.9

DRIEMEIER,D., CRUZ,C.E.F., GOMES,M.J., CORBELLINI,P.G., LORETTI A.P.,COLODEL, E.M. 1999. Aspectos clínicos e patológicos da paratuberculose em bovinos no Rio Grande do Sul. **Pesq. Vet. Bras** . 19:109-115.

DUCATI, R.G.; BASSO, L.A.; SANTOS, D.S. Micobactérias. In:TRABULSI, R.L.; ATERTHUM, F. **Microbiologia**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2004. cap.56.

EVANS, S.A., COLVILLE, A., EVANS, A.J., CRISP, A.J. , JOHNSTON,I.D. 1996. Pulmonary Mycobacterium kansasii infection: comparison of the clinical features, treatment and outcome with pulmonary tuberculosis. **Thorax** 5:1248- 1252.

FLEAGLE,G. Primate Adaptation and Evolution ; **Academic Press**, New York 2º ed, 1999

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine.** 3 ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 617p, 1993

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine.** 5 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2003. 782p

FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo and wild animal medicine** . 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986.

FROLKA, J. 1989. Tuberculosis among Brazilian tapirs in zoo and its prevention. Erkrankungen der Zootiere. Verhandlung-sbericht des 31. In: **Internacionalen Symposiums über die Erkrankungen der Zoo und Wildtiere**. Dortmund, 281-284

GRINNER, L., Pathology of Zôo Animals- Mammals **Zoological society of San Diego Califórnia.** 1983

INDERLIED,C.B., KEMPER,C.A., BERMUDEZ, L.E. The Mycobacterium avium complex. **Clin. Microbiol. Rev.** 6:266-310. 1993.

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS (Brasília). **Legislação sobre zoológicos.** Departamento de Vida Silvestre Brasília: Diretoria de Ecossistemas, 1989.

JARRETA, I. T. D., SANTOS, K. C. P. S. , YAMAMOTO, M. E. primatologia no Brasil: 10 anos de. In: **A primatologia no Brasil** (EDUFRN/SBPr, Natal, 281-292. 1997

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**, São Paulo: Manole, 1997 p.499-508.

KRITSKI, A. L.; CONDE, M. B. & SOUZA, G. R. M.**Tuberculose: do ambulatório à enfermaria.** São Paulo: Atheneu. . 1998.
MELLO, M. T. **A Primatologia no Brasil 6** Sociedade Brasileira de Primatologia, Belo Horizonte. 1984.
MELO, M.T. Situação atual dos calitriquideos que ocorrem no Brasil (Callitrichidae, Primates) In: COIMBA-FILHO, A.F. **A primatologia no Brasil**, Belo Horizonte: 1983.v.1, p.15-53
MICHEL, A.L.; HUCHZERMEYER, H.F. The zoonotic importance of *Mycobacterium tuberculosis* transmission from human to monkey. **J.S. Afr. Vet. Assoc.** n.69, p.64-65.1998
MIJS, W., HAAS, P., ROSSAU, R., VAN DER LAAN, T., RIGOUTS, L., PORTAELS, F. 2002. Molecular evidence to support a proposal to reserve the designation Mycobacterium avium subsp. avium for bird-type isolates and "M. avium subsp. hominissuis" for the human/porcine type of M. avium.. **Evol. Microbiol**. 52:1505-1518.
MONTALI, R. J.; MIGAKI, G. **The comparative pathology of zoo animals.** Washington: Smithsonian Institution, 1980. 684 p.
MUNSON, L.; COOK, R. A. Monitoring, investigation and surveillance of diseases in captive wildlife. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine** , v. 24, n.3, p. 281-90, 1993.
PAULA, A. Tuberculose: ontem, hoje e amanhã. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v.55, n.1, p.74-98, 1988.
PICON, P. D.; RIZZON, C.F.C. & OTT, W. P.,. Tuberculose: Epidemiologia, Diagnóstico, Tratamento em Clínica e Saúde Pública. Rio de Janeiro: Medsi. 1993
RAMADINHA,L.S. **Pelvimetria em micos leões** .2003.59 f Tese (Doutorado em Anatomia dos Animais Domésticos). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
RAVIGLIONE,M.C., SNIDER,D.E., KOCHI, A. Global epidemiology of tuberculosis: morbility and mortality of worldwide epidemic. **JAMA.** 273: 220-6 ,1995
RIET-CORREA, F. 1998. Paratuberculose, p.267-270. In: RIET-CORREA, F., SCHILD,A.L., MENDEZ,M.C.,LEMOS,R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Eqüinos** . 2ª ed. Varela, São Paulo. 425p.
RUNYON, E.H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease**. Med.Clin. North Am**. 43:273-290.1959
RYLANDS, A.B.; MITTERMEIER, C.P.G; RODRIGUEZ -LUNA,E. A species list for the New World Primates (Platyrrhini) distribution by country, endemism and conservation status according to the Mace-Land system assessment of the diversity of the New World Primates. **Neotropical Primates.** v.3,p.113-160, 1995 Supplement
RYLANDS, A.B.; SCHNEIDER,H; LANGGUTH,A; MITTERMEIER, C.P.G; RODRIGUEZ-LUNA,E. An assesment of the diversity os new world primates.**Neotropical Primates**, v.8,n.2,p.61-93, 2000
SANTOS, J.A., COSTA, J.E. 1981. Tuberculose em anta (Tapirus terrestris). Reunião da Sociedade de Zoológicos do Brasil, 2. SZB Rio de Janeiro. ARQUIVOS, 21.
SEDGWICK, C. J.; ROBINSON, P. T.; LOCHNER, F. K. Zoonoses: a zoo's concern. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 167, n. 9, p. 828-829, 1975.
SHOEB, T.R. Diseases of laboratory primates. **Diseases of laboratory animals II.** 1990.
SIEMERING, H. Zoonosis. In: FOWLER, M. E. (Ed.). **Zoo & wild animal medicine.** 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1986. p. 63-8.
SILVA, J.C.R. **Zoonoses e Doenças Emergentes Transmitidas por Animais Silvestres**. ABRAVAS, 2003.
SILVA, J.C.R; OGASSAWARA, S.; ADANIA, C.H.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; FERREIRA NETO, J.S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 217-224, 2001.
SNIDER JR, D.E. Tuberculosis: the world situation, history of the disease and efforts to combat it. In: PORTER, J.D.H, MCADAM, K., KEITH, P.W.J., **Tuberculosis: back to the future.** Chichester: John Wiley; p.13 –31,1994.
Steele, J.H. **CRC handbook series in zoonoses. Section A: Bacterial, rickettsial and micotic diseases.** v.1, Boca Raton, Fla: CRC Press, p.363-421, 1979.
THE WORLD ZOO ORGANIZATION - IUDZG. THE CAPTIVE BREEDING SPECIALIST GROUP (IUCN/SSC). **The world zoo conservation strategy** – The role of the zoos and aquaria of the world in global conservation. Illinois: Chicago Zoological Society, 1993. 76p.
THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology.** 2 ed. Oxford: Blackwell Science, 1995. p.148.
TURY, E; MUNIZ, A.P.C; BRIGIDO, M.C.O. Tuberculose causada pela *Mycobacterium tuberculosis* entre macacos (*Cebus apella*) mantidos em cativeiro. Observações clínico anatômicas e histopatológicas. **A hora veterinária,** nº104 p.54-57, Jul/Ago 1998.
van EMBDEN, J. D. A.; CAVE, M. D.; CRAWFORD, J. T.; DALE, J. W.; EISENACH, K. D.; GICQUEL, B.; HERMANS, P.; MARTIN, C.; McADAM, R.; SHINNICK, T. M.; SMALL, P. M. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. **J. Clin. Microbiol.**, v. 31, p. 406-409, 1993.
WOLFE,N.D, ESCALANTE,A.A, KARESH,W.B, KILBOURN,A., SPIELMAN,A., LAL,A.A. Wild primate population in emerging infectious disease research: the missin link? **Ahead wildlife project**, Atlanta, 11 march 2000. Disponivel em : http://www.fas.org/ahead/wildlife.html Acesso em : 23 de janeiro de 2007.
WORLD HEALTH ORGANIZATION REGIONAL OFFICE FOR EUROPE.Tuberculosis control in the WHO European Region. Disponível em: http://www.euro.who.int/document/ CMA/rc52fstb0702e.pdf>. Acesso em: 17 julho 2007.
WORLD HEALTH ORGANIZATION. Tuberculosis. **Fact Sheet.** nº 104. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/ factsheets/who104/en/>. Acesso em: 21 janeiro 2007.
WORLD HEALTH ORGANIZATION. Zoonotic tuberculosis (Mycobacterium bovis) memorandum from a WHO meeting with the participation of FAO. **Bulletin of World Health Organization**, v.72, p.8510-8857, 1994.
YAMAMOTO, M. E. , SOUSA, M. B. C. **A Primatologia no Brasil 4**. Editora Universitária UFRN, Natal. 1993