



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Micobactérias não-tuberculosas em quelónios e o seu risco para a saúde pública

Maria Henrique de Moura Pinheiro Antunes

Coimbra, julho 2020



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Micobactérias não-tuberculosas em quelónios e o seu risco para a saúde pública

Coimbra, julho 2020

Maria Henrique de Moura Pinheiro Antunes

Aluna do Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Prof. Doutora Eduarda Silveira

Arguente: Prof. Doutor Tiago Alfaro

Orientador: Prof. Doutora Ana Calado

Orientador Interno

Prof. Doutora Ana Calado

Coorientador Interno

Mestre Hélder Craveiro

Orientadores externos:

Doutora Joana Ferreira

Doutor Hugo Fernández

Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente ao Grau de Mestre em Medicina
Veterinária da EUVG

Agradecimentos

Agradeço ao Hospital Veterinário Universitário de Coimbra, à Agrivet - Consultório Veterinário de Castelo Branco, à Exoclinic em Álgos, à Gestivet – Soluções & Serviços Veterinários Unip. Lda, ao Centro de Exóticos do Porto e ao Zoológico de Barcelona por me terem recebido tão bem ao longo destes anos e por me terem feito crescer a nível profissional e pessoal.

À Professora Ana Calado por toda a ajuda na minha dissertação. Mesmo não sendo a sua área sempre foi muito interessada e batalhou a meu lado para que esta tese fosse possível.

Ao Professor Hélder Craveiro pelo auxílio.

Ao meu pai, que foi o primeiro a acreditar nas minhas capacidades e ambições e porque todo o seu esforço pessoal e profissional deram-me o privilégio de tirar o curso dos meus sonhos.

À minha mãe, por tudo. Mas principalmente pelo amor e apoio incondicional que me dá.

Ao meu namorado, que me apoiou e aturou ao longo destes árduos meses de trabalho, sempre com a maior paciência do mundo.

Às minhas amigas por sempre acreditarem em mim, sem nunca por em causa as minhas capacidades.

Aos meus amigos e colegas de faculdade por estarem sempre presentes ao longo destes 6 anos de batalha.

Índice

Agradecimentos	iv
Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas.....	vi
Lista de abreviaturas	vii
Abstract.....	2
Resumo	2
Introdução	4
Capítulo I – Micobactérias não-tuberculosas em quelónios	6
Classificação de <i>Mycobacterium spp</i>	6
Etiopatogenia do género <i>Mycobacterium</i>	8
Epidemiologia em quelónios	9
Quadro clínico de micobacterioses em quelónios	10
Diagnóstico de micobacterioses em quelónios	11
Tratamento de micobacterioses em quelónios	12
Casos reportados de micobacterioses em quelónios	12
Capítulo II - Micobactérias não-tuberculosas em humanos	16
Epidemiologia de NTM em humanos	16
Quadro clínico de NTM em humanos	17
Diagnóstico de NTM em humanos	20
Tratamento de NTM em humanos.....	21
Prognóstico	22
Estudo epidemiológico de micobactérias na população portuguesa	22
Caso reportado de <i>M. marinum</i> proveniente de contacto com répteis	22
Capítulo III - Risco zoonótico e a sua prevenção em humanos e quelónios	23
Potencial Zoonótico	24
Prevalência de micobacteriose em quelónios	24
Prevenção em humanos	25
Prevenção em quelónios	25
Infeções inter-espécie	28
Papel do médico veterinário e sensibilização da comunidade médica	28
Capítulo IV – Discussão e Conclusão	29
Capitulo V – Bibliografia	31
Anexos	Erro! Marcador não definido.

Índice de Figuras

Figura 1 - Representação esquemática do invólucro celular micobacteriano.	8
Figura 2 - Mecanismo de virulência de algumas micobactérias.	9
Figura 3 - Típico granuloma histiocítico no fígado com um centro de necrose e rodeado de macrófagos e células gigantes multinucleadas.	11
Figura 4 - Granulomas multifocais histiocíticos no parênquima do baço.	11

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Separação de micobactérias em dois grupos, para fins práticos	6
Tabela 2 - Casos de micobactérias atípicas reportados em quelônios.	13
Tabela 3 - Formas clínicas de infecção pulmonar por micobacteriose, em humanos.	18
Tabela 4 - Tratamento de micobactérias de crescimento lento e crescimento rápido.	21
Tabela 5 - Condições ideais de manejo de quelônios.	27

Lista de abreviaturas

DPOC: Doença pulmonar obstrutiva crónica

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana (do inglês, *Human immunodeficiency virus*)

IFN- γ : Interferão-gama

IL-12: Interleucina 12

MAC: Complexo *Mycobacterium avium* (do inglês, *Mycobacterium avium complex*)

MOTT: Micobactérias que não do complexo *M. tuberculosis* (do inglês, *Mycobacteria other than tuberculosis*)

MTC: Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (do inglês, *Mycobacterium tuberculosis complex*)

NAC: Novos animais de companhia

NTM: Micobactérias não-tuberculosas (do inglês, *Nontuberculous mycobacteria*)

PCR: Reação em cadeia da polimerase (do inglês, *Polymerase Chain Reaction*)

TNF- α : Fator de necrose tumoral - alfa (do inglês, *Tumor necrosis factor α*)

UVA: Radiação ultravioleta A (do inglês, *Ultraviolet A radiation*)

UVB: Radiação ultravioleta B (do inglês, *Ultraviolet B radiation*)

Micobactérias não-tuberculosas em quelónios e o seu risco para a saúde pública (*Non-tuberculous mycobacteria in turtles and their risk to public health*)

Antunes M.¹, Craveiro H.^{1,2}, Lopes, C. A.^{1,3}

¹ Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário - Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (mariahmpantunes@gmail.com)

² Hospital Veterinário do Baixo Vouga, Águeda, Portugal (vethelder.craveiro@gmail.com)

³ Centro de Investigação Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário - Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (anacaladolopes@gmail.com)

Resumo

Os répteis são cada vez mais frequentes em cativeiro. As tartarugas (terrestres e semiaquáticas) são os mais comuns em ambientes domésticos. Os quelônios podem ser portadores de vários agentes patogênicos tal como as *Mycobacterium spp*, mesmo quando são assintomáticos. Micobacteriose é uma doença zoonótica, principalmente conhecida pela tuberculose e lepra. No entanto as micobactérias não-tuberculosas (NTM) também são um problema de saúde pública, estas podem provocar infecções principalmente em humanos imunocomprometidos. Os quelônios podem ser uma possível fonte de transmissão, sobretudo em situações de *stress* consequente de ambientes com condições inadequadas e comércio ilegal. Com isto reforça-se a importância da educação dos tutores acerca do seu devido cuidado de modo a garantir boa saúde ao animal, mas também de modo a protegerem-se.

Palavras chave: Répteis, quelônios, micobacterioses, tuberculose, zoonoses, cativeiro e bem-estar animal.

Abstract

Reptiles are more and more frequent in captivity. The turtles (terrestrial and semi-aquatic) are the reptiles more commonly present in domestic environment. Chelonians can carry several pathogens such as *Mycobacterium spp*, even when they are asymptomatic. Mycobacteriosis is a zoonotic disease, mainly known for tuberculosis and leprosy. However nontuberculous mycobacteria (NTM) are also a public health problem, these can cause infections mainly in immunocompromised humans. Chelonians can be a possible source of transmission, especially under *stress* condition resulting from environments with inadequate conditions and illegal trade. This reinforces the importance of educating tutors about due care in order to ensure good health for the animal, but also in order to protect themselves.

Key Words: Reptiles, turtles, mycobacterioses, tuberculosis, zoonoses, animal welfare.

Introdução

Nos últimos anos tem havido uma crescente aquisição de répteis, na categoria de novos animais de companhia, sendo as tartarugas, tanto aquáticas como terrestres, bastante comuns de encontrar em cativeiro (Ebani & Fratini, 2005). Em ambiente doméstico, o contacto com animais muito interativos como os cães, ou pouco interativos como as tartarugas, traz vantagens ao nível da saúde humana, no plano físico, psicológico e social (Pasmans *et al.*, 2017). Contudo as desvantagens prendem-se sobretudo com questões de saúde pública, pois o convívio com estes animais pode estar relacionado com o risco de transmissão de doenças com potencial zoonótico (Mitchell, 2011). Como tal, é preciso educar os tutores visto que o desconhecimento dá origem, frequentemente, a falhas no manuseio e higiene, e às transmissões de agentes patogénicos capazes de causar doença nos humanos (Ebani & Fratini, 2005). Inúmeras vezes o aconselhamento veterinário não é devidamente procurado, com potencial repercussão em saúde pública (Pasmans *et al.*, 2017).

Entre os agentes zoonóticos mais relevantes estão as bactérias do género *Mycobacterium*. Estas bactérias com potencial patogénico são bacilos gram positivo, aeróbicas não formadoras de esporos, imóveis, ubíquas do ambiente, podendo ser encontradas no solo e água (Ebani, 2017) e com capacidade de infetar uma grande variedade de hospedeiros (Rastogi, Legrand, & Sola, 2001). A maioria das micobactérias isoladas nos répteis é classificada como micobactérias atípicas (Mitchell, 2012) ou também chamadas de micobactérias não-tuberculosas (NTM) (Rastogi *et al.*, 2001). As lesões que frequentemente lhes estão associadas são granulomas, em diferentes partes do corpo (Soldati *et al.*, 2004), podendo também causar bacteriemia (Ebani, 2017).

Em comparação com os répteis, a micobacteriose é mais prevalente em aves e peixes (Mitchell, 2012). Como ectotérmicos, os répteis podem ser um fator importante na epidemiologia de micobacterioses porque a doença pode ser subclínica durante vários anos (Mitchell, 2012) e, por isso, estes animais são por vezes considerados resistentes às micobacterioses (Ebani, 2017). No entanto em condições de *stress* pode desencadear-se um quadro clínico (Ebani & Fratini, 2005), e, por esse motivo, os animais em cativeiro são mais propensos a ter estas infeções bacterianas (Ebani, Fratini, Bertelloni, Cerri, & Tortoli, 2012).

O primeiro caso conhecido de micobacteriose em quelónios foi uma tartaruga marinha no ano de 1903, reportado por Friedrich Freidmann, sendo que a maioria dos casos em tartarugas selvagens estão associados com tartarugas marinhas (Mitchell, 2012). As principais espécies de micobactérias encontradas são *Mycobacterium chelonae* (Ebani, 2017) e *Mycobacterium marinum* (Hsieh *et al.*, 2006). O grupo da *Mycobacterium tuberculosis*, responsável por tuberculose em humanos, até à data não foi reportado em quelónios (Mitchell, 2012).

As formas atípicas de *Mycobacterium*, apesar de não provocarem tuberculose podem ser agentes oportunistas importantes em indivíduos imunocomprometido e crianças (Pinitpuwadol, Sarunket, Boonsopon, Tesavibul, & Choopong, 2018). Em humanos a doença pulmonar é a mais comum,

apesar de nos nódulos linfáticos, epiderme, tecidos moles, ossos e articulações também poder ocorrer (E Tortoli, 2009).

Com o aumento da importação de animais exóticos com destino a ambientes domésticos (Ebani & Fratini, 2005), o papel do médico veterinário é fundamental na educação dos tutores, do público e dos funcionários de laboratório que, sendo que precisa de estar atualizado quanto às zoonoses emergentes, de maneira a proteger-se a si e a todos os que possam ter contacto com estes animais (Mitchell, 2011).

O presente artigo de revisão pretende abordar o tema das micobactérias não-tuberculosas em quelónios (capítulo I), das micobactérias não-tuberculosas em humanos (capítulo II) e os fatores a ter em conta para prevenir esta zoonose (Capítulo III).

Capítulo I – Micobactérias não-tuberculosas em quelônios

Classificação de *Mycobacterium spp*

O género *Mycobacterium* inclui mais de 190 espécies, pertencentes à família *Mycobacteriaceae*, à classe *Corynebacteriales* e filo *Actinobacteria* (Enrico Tortoli, 2019). O nome genérico de *Mycobacterium* foi inicialmente designado para a maneira como estes organismos crescem de forma semelhante ao mofo em meios líquidos (Velayati, Farnia, & Saif, 2019). São caracterizadas por serem bacilos gram-positivo (Bernal, Agudelo, & Martínez, 2008), sem mobilidade, aeróbicas, não esporuladas e resistentes a descoloração acido-álcool com fucsina fenicada (coloração *Ziehl-Neelsen*) (Rastogi *et al.*, 2001). Inicialmente era bastante difícil de distinguir da *Nocardia*, *Rhodococcus* e *Corynebacterium*, mas posteriormente adicionaram-se critérios de diferenciação, tais como: coloração de gram, taxa de crescimento e perfis de ácido micólico (Velayati *et al.*, 2019).

A patogenicidade das micobactérias varia significativamente entre elas, assim, para fins práticos, foram diferenciadas em dois grupos (Velayati *et al.*, 2019) possíveis de observar na Tabela 1.

Tabela 1 - Separação de micobactérias em dois grupos, para fins práticos (Rastogi *et al.*, 2001; Sinha *et al.*, 2016; Soldati *et al.*, 2004).

Micobactérias MTC	Micobactérias MOTT ou NTM ou Micobactérias atípicas
<i>M. tuberculosis</i> ;	<i>M. avium</i> ;
<i>M. bovis</i> ;	<i>M. intracellulare</i> ;
<i>M. africanum</i> ;	<i>M. kansasii</i> ;
<i>M. microti</i> ;	<i>M. fortuitum</i> ;
<i>M. canetti</i> ;	<i>M. chelonae</i> ;
<i>M. orygis</i> ;	<i>M. szulgai</i> ;
<i>M. caprae</i> ;	<i>M. paratuberculosis</i> ;
<i>M. pinnipedii</i> ;	<i>M. scrofulaceum</i> ;
<i>M. suricattae</i> ;	<i>M. leprae</i> ;
<i>M. mungi</i> .	<i>M. lepraemurium</i> ;
	...

MTC: Complexo *Mycobacterium tuberculosis*
MOTT: Micobactérias que não do complexo *M. tuberculosis*
NTM: Micobactérias não-tuberculosas

Em 1957, Ernest Runyon separou as micobactérias não tuberculosas de acordo com o seu crescimento e pigmentação e, com base nestas características, formou três grupos (Grupo I, II e III) que correspondem a bactérias de crescimento lento, isto é, que exigem mais de uma semana a crescer e um quarto grupo (Grupo IV) para as micobactérias de crescimento rápido, que requerem uma cultura de uma semana ou menos (Velayati *et al.*, 2019), como se passa a descrever:

- Grupo I – Composto por espécies de micobactérias fotocromogénicas, isto é, às colónias de bactérias que adquirem pigmentação apenas na presença de luz (Velayati *et al.*, 2019). Este grupo inclui *Mycobacterium kansasii* e *M. marinum* (Oliveira, 2015);
- Grupo II - Corresponde a micobactérias escotocromogénicas, que apresentam pigmentação na presença ou ausência de luz (Velayati *et al.*, 2019), como por exemplo *Mycobacterium gordonae* (Oliveira, 2015);
- Grupo III – Neste grupo encontram-se as micobactérias de espécies não-cromogénicas, que não produzem pigmentação. A este grupo pertence o complexo *Mycobacterium avium* – complexo MAC (*M. avium* e *M. intracellulare*) (Velayati *et al.*, 2019) e *M. ulcerans* (Sakaguchi *et al.*, 2011);
- Grupo IV – Corresponde a bactérias de elevada resistência a antibióticos (Greer, Strandberg, & Whitaker, 2003), sendo que as colónias podem apresentar pigmentação ou não (Oliveira, 2015). Deste grupo fazem parte a *Mycobacterium chelonae* e *M. fortuitum* (Greer *et al.*, 2003).

No entanto esta classificação tem algumas limitações como é o caso do complexo de *M. avium*, que são colónias não cromogénicas mas alguns isolados apresentam pigmentação (Velayati *et al.*, 2019).

Classificadas com base em critérios clínicos correspondentes a doenças causadas por micobactérias, as espécies são divididas em três grupos (Farnia, Farnia, & Ghanavi, 2019):

1. Estritamente patogénicas (Oliveira, 2015) – Patógenos estritos a humanos e animais que são membros do complexo *M. tuberculosis* os quais geralmente não são encontrados no meio ambiente (Farnia *et al.*, 2019). Neste grupo está incluído *M. tuberculosis*, *M. bovis*, entre outras (Oliveira, 2015);
2. Potencialmente patogénicas (Oliveira, 2015) – Consiste em espécies que estão disponíveis em todos os lugares da natureza, também chamadas de micobactérias oportunistas, como é o caso de *M. ulcerans* (Farnia *et al.*, 2019), *M. kansasii*, *M. marinum*, *M. avium*, *M. chelonae*, *M. fortium* e outras (Oliveira, 2015);
3. Raramente patogénicas (Oliveira, 2015) – Micobactérias não patogénicas ou excepcionalmente patogénicas, normalmente saprófitas (Farnia *et al.*, 2019). Neste grupo estão incluídas *M. gordonae*, *M. terrae*, *M. lepraemurium*, etc... (Oliveira, 2015).

Etiopatogenia do género *Mycobacterium*

O género *Mycobacterium* contém agentes etiológicos clássicos de reações granulomatosas em hospedeiros humanos e animais (Soldati *et al.*, 2004). Da sua parede celular (Figura 1) fazem parte os seguintes componentes: arabinano, galactano, ácido diaminopimérico (Rastogi *et al.*, 2001) e ácido micólico (P. R. Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2016). Um fator de virulência destas bactérias são os lipopolissacarídeos, estes capazes de modular a secreção de citocinas e as funções efetoras dos macrófagos, permitindo modular as respostas imunes no hospedeiro (Rastogi *et al.*, 2001). O seu poder patogénico deve-se em grande parte à densa parede celular, rica em lípidos (Bernal *et al.*, 2008) e hidrofóbica (Ahmed, Hasan, & Shakoor, 2019) que lhe permite sobreviver em ambientes hostis (Bernal *et al.*, 2008) e resistir a antibióticos (Ahmed *et al.*, 2019).

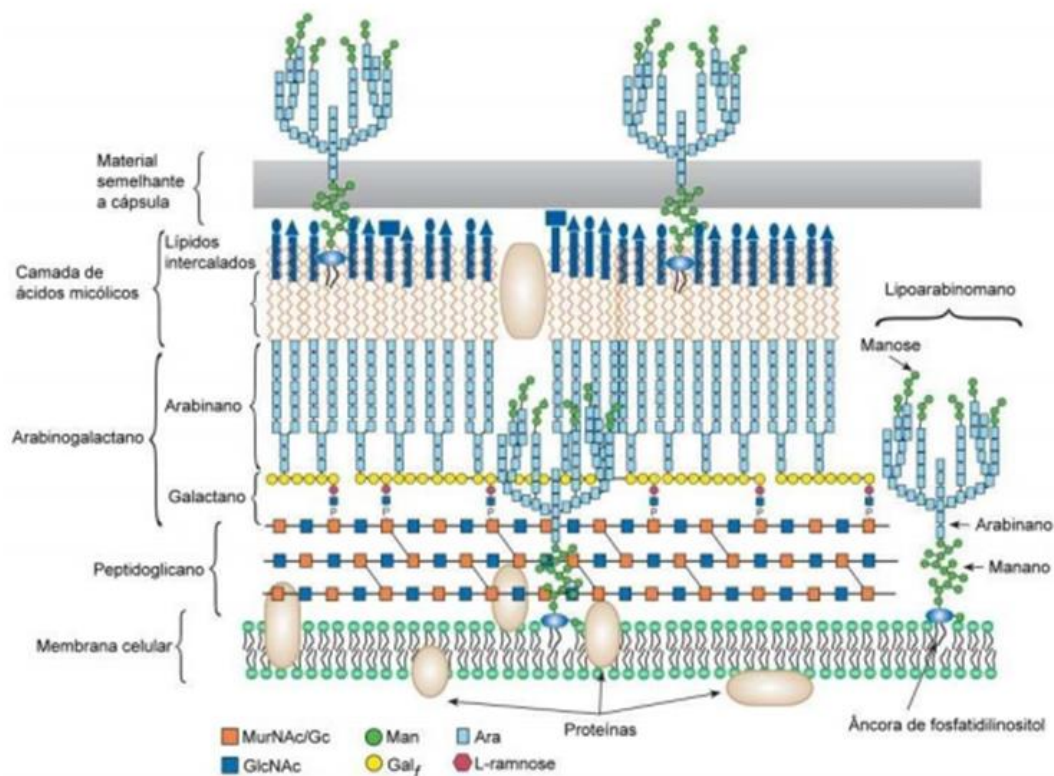


Figura 1 - Representação esquemática do invólucro celular micobacteriano. (Adaptado de Ramos, 2010).

Algumas micobactérias têm a capacidade de impedir a fusão do fagossoma com o lisossoma, bloqueando a molécula de ponte específica (Auto-antigénio do endossoma primário) e também capacidade de fundir fagossomos com outras vesículas intracelulares de modo a ter acesso a nutrientes e facilitar a sua replicação (P. R. Murray *et al.*, 2016) (Figura 2).

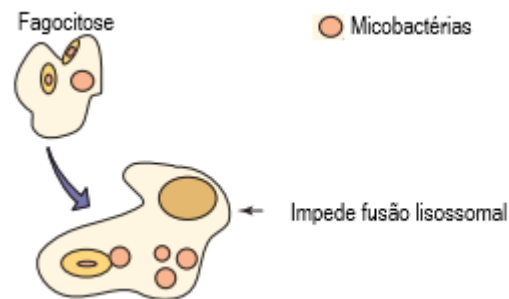


Figura 2 - Mecanismo de virulência de algumas micobactérias. (Adaptado de P. R. Murray, Rosenthal, & Pfaller, 2016).

De modo a evitar a propagação das micobactérias há formação de granulomas, constituídos por um núcleo central de massa necrótica com micobactérias, rodeado por uma parede densa de macrófagos e células do sistema imunitário (P. R. Murray *et al.*, 2016).

Epidemiologia em quelónios

Micobactérias não-tuberculosas causam infeções esporádicas e oportunistas que podem levar à manifestação de doenças clínicas numa grande variedade de animais, incluindo mamíferos, aves e répteis (Noyes, Bronson, Deem, Sanchez, & Murray, 2007). São microrganismos ambientais vastamente distribuídos pela natureza, podendo estar naturalmente presentes no solo e pó (Ebani & Fratini, 2005), mas principalmente em meios aquáticos (Ahmed *et al.*, 2019) como fontes de água naturais ou água canalizada (Antunes, Viveiros, Carvalho, & Duarte, 2012). Esta característica pode explicar a maior ocorrência registada de micobacterioses em tartarugas aquáticas ou semiaquáticas (Ebani & Fratini, 2005).

Micobacteriose em quelónios é, tipicamente, uma doença crónica caracterizada por granulomas viscerais e cutâneos (M. Murray, Waliszewski, & Garner, 2009). Apesar da forma de transmissão não ser bem conhecida, (Ebani, 2017) pensa-se que a via de entrada principal seja através de lesões na pele, no sistema respiratório ou no sistema urogenital (Reavill & Schmidt, 2012). Contudo o contágio pode ocorrer por ingestão de comida ou água contaminada (Ebani, 2017), com consequente invasão pelos dos defeitos nos revestimentos epiteliais da mucosa gastrointestinal, genito-urinária e pulmonar (M. Murray *et al.*, 2009). Também está reportada a hipótese de que a via respiratória possa ser uma fonte de entrada destas bactérias no organismo. (Sakaguchi *et al.*, 2011).

Devido aos poucos casos conhecidos de micobactérias em répteis, considera-se que estes animais são naturalmente resistentes a micobactérias (Ebani & Fratini, 2005). Sabe-se que os quelônios podem conter estes agentes no seu organismo mas, não sendo hospedeiros naturais, não apresentam um quadro clínico nem eliminam micobactérias pelas fezes (Bernal *et al.*, 2008). No entanto, sabe-se também que quando há uma diminuição da função imunitária (Ebani *et al.*, 2012) ou a introdução de um elevado número de bactérias no animal, as micobactérias podem desencadear um quadro clínico com sintomatologia mais ou menos evidente (Ebani & Fratini, 2005). Os fatores de risco como *stress*, inadequada nutrição, doenças crônicas (Ebani *et al.*, 2012) ou doenças concomitantes (Ebani, 2017) têm um efeito imunossupressor (Ebani & Fratini, 2005). Um aspeto importante na epidemiologia da micobacteriose é que a grande parte dos casos reportados são em animais em cativeiro ou em animais selvagens em centros de recuperação (Mitchell, 2012).

Quadro clínico de micobacterioses em quelônios

As infeções por micobactérias não-tuberculosas em quelônios manifestam-se com lesões e sintomatologia específicas e não-específicas (Ebani, 2017), podendo ocorrer debilitação crónica ou forma cutânea (Johnson, 2004). Os granulomas em diferentes partes do organismo são indiciadores de uma infeção crónica causada por micobactérias (Mitchell, 2012). Pode existir propagação hematogênica ou linfática (Sakaguchi *et al.*, 2011) envolvendo os pulmões, fígado, baço, rim, coração, osso, gónadas, sistema nervoso e articulações (Ebani & Fratini, 2005). Pode também apresentar sinais não específicos (Pasmans, Blahak, Martel, & Pantchev, 2008), como perda de peso e redução do apetite (Ebani, 2017) embora, em casos excepcionais, como no caso publicado por Murray *et al.* (2009), os quelônios possam apresentar a forma aguda não granulomatosa de Micobacteriose com efeitos sistémicos e intravasculares, como septicémia e coagulação intravascular disseminada, sendo esta última raramente reportada em quelônios. Neste caso específico, a tartaruga apresentava hemoptise, hemorragia celómica e pulmonar, juntamente com petéquias e equimoses generalizadas, resultado de uma septicémia devido a um compromisso do sistema gastrointestinal e da bexiga do animal (M. Murray *et al.*, 2009). Também já foi reportado osteoartrite no cotovelo direito e osteólise no rádio e ulna numa tartaruga infetada com bactérias do género *Mycobacterium*, indicando também uma possível infeção sistémica (Greer *et al.*, 2003).

Como referido anteriormente, doenças concomitantes constituem um dos mais importantes fatores de risco, sendo que a mais comum é uma ocorrência conjunta com fungos, ficando as micobactérias mascarada por outros agentes patógenos (Mitchell, 2011). No caso de Greer *et al.* (2003) que reportou um caso de *Mycobacterium chelonae* concomitante com dermatite fúngica e outra bactéria (*Flavobacterium meningoseptium*).

Estes dados são relevantes em clínica, já que nos casos em que os quelônios apresentam sinais de debilitação crónica ou lesões cutâneas que não curam, a micobacteriose deve ser considerada como um diagnóstico diferencial (Mitchell, 2011).

Diagnóstico de micobacterioses em quelônios

As amostras para isolamento e identificação deste agente devem ser colhidas a partir das lesões ou através de raspagem de pele, biópsia de tecido (Pasmans *et al.*, 2008) ou citologia com agulha fina (Reavill & Schmidt, 2012). Devem ser recolhidas de forma assética (Sinha *et al.*, 2016) de modo a evitar qualquer contaminação ambiental da amostra (Varma-basil & Bose, 2019). É necessário o uso de recipientes estéreis e devidamente identificados, sem o uso de meios de transporte ou conservantes (Varma-basil & Bose, 2019). A refrigeração é recomendada quando está previsto um atraso de mais de uma hora no transporte da amostra para o laboratório (Varma-basil & Bose, 2019). Os meios de cultura seletivos para micobactérias são o meio Löwenstein Jensen e ágar Middlebrook 7H10 (P. R. Murray *et al.*, 2016). Relativamente às amostras fecais, é necessário ter em conta que apresentam elevada diversidade de flora bacteriana e, por isso, elevado grau de contaminação, pelo que importa realizar os corretos procedimentos com vista a diminuir a contaminação (Bernal *et al.*, 2008), tendo sempre em consideração que as micobactérias não-tuberculosas são bactérias ubíquas (Ahmed *et al.*, 2019). Em animais clinicamente saudáveis é improvável que seja significativa a presença de micobactérias nas fezes (Pasmans *et al.*, 2008).

Na necrópsia de quelônios, as lesões causadas por micobacteriose são nódulos branco-acinzentados (Ebani, 2017) em vários órgãos e zonas subcutâneas (Pasmans *et al.*, 2008), bem como úlceras no plastrão e na mucosa oral (Ebani & Fratini, 2005).

No exame histopatológico observa-se inflamação granulomatosa típica (Ebani, 2017), com áreas multifocais de necrose caseosa (Sakaguchi *et al.*, 2011) cercadas por linfócitos, macrófagos, células gigantes multinucleadas, bactérias álcool-ácido resistentes (Greer *et al.*, 2003), células epiteliais, plasmócitos (Soldati *et al.*, 2004) e por vezes tecido fibroso que forma uma cápsula ao redor do granuloma (Sakaguchi *et al.*, 2011). Ao contrário da tuberculose em mamíferos, em quelônios não é observada calcificação do granuloma (Soldati *et al.*, 2004). Estes granulomas podem ser classificados como heterófilos ou histiocíticos (Figura 3 e Figura 4), independentemente da espécie infetante (Hsieh *et al.*, 2006).

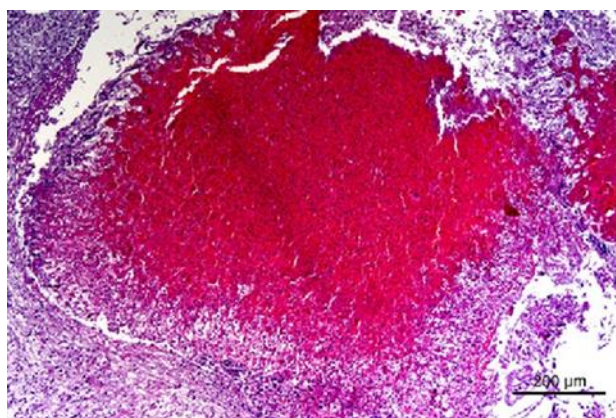


Figura 3 - Típico granuloma histiocítico no fígado com um centro de necrose e rodeado de macrófagos e células

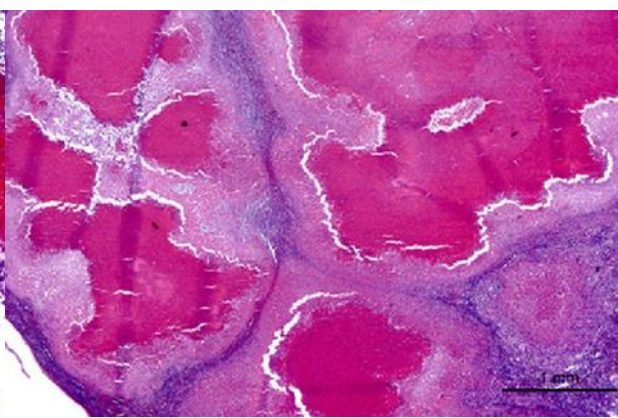


Figura 4 - Granulomas multifocais histiocíticos no parênquima do baço. (Adaptado de *et al.*, 2020).

gigantes multinucleadas. (Adaptado de Muro *et al.*, 2020).

Como exame laboratorial deve-se recorrer a colorações especiais, como colorações álcool-ácido resistentes, como é o caso da coloração de Ziehl-Neelsen (Mitchell, 2011), sendo que secções de tecido intestinal de veado com paratuberculose podem ser usados como controlo positivo (Soldati *et al.*, 2004). Devido a muitas espécies de micobactérias serem de crescimento lento a cultura destas por vezes é complicada (Noyes *et al.*, 2007). O método de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) é usado para confirmação de diagnóstico (Pasmans *et al.*, 2008) e auxiliar na identificação do agente, sendo esta mais sensível que a técnica de coloração. (Soldati *et al.*, 2004). Podem-se realizar outros exames como o teste da catalase, redução de nitrato e teste de hidrólise, sendo que os resultados destes métodos são diferentes para cada espécie (Orós, Acosta, Gaskin, Déniz, & Jensen, 2003).

Tratamento de micobacteriose s em quelónios

Com o difícil diagnóstico torna-se difícil também o seu tratamento (Noyes *et al.*, 2007) e alguns autores referem mesmo que não é recomendado (Johnson, 2004). Para além do sucesso do tratamento ainda não ter sido reportado, devido ao potencial zoonótico da micobactéria o tratamento pode apresentar riscos para os tutores e tratadores (M. Murray *et al.*, 2009). a maioria dos casos reportados optou-se pela eutanásia (Bernal *et al.*, 2008; Greer *et al.*, 2003; M. Murray *et al.*, 2009; Noyes *et al.*, 2007) e em outros casos as tartarugas acabaram por morrer (Orós *et al.*, 2003; Sakaguchi *et al.*, 2011).

Casos reportados de micobacteriose s em quelónios

Em 1903, Friedman reportou o primeiro caso de micobactéria em quelónios, da espécie *Mycobacterium chelonae*, isolado no pulmão numa tartaruga do nilo (*Trionys triunguis*), uma tartaruga de água doce (Greer *et al.*, 2003).

Apesar de raros, há alguns casos reportados de micobactérias em quelónios, causando morbilidade e mortalidade (Mitchell, 2012). Até à data, com sintomatologia, apenas foram reportados dois caso em tartarugas terrestres (Muro *et al.*, 2020; Noyes *et al.*, 2007).

Na Tabela 2 é possível observar os casos que isolaram *Mycobacterium spp* de quelónios, sobre condições naturais ou experimentais.

Tabela 2 - Casos de micobactérias atípicas reportados em quelônios.

Espécie dos quelônios (Aquática ou terrestre)	Nº de animais	Espécie de micobactéria	Local de infecção	Ambiente do animal	Condição da doença	Bibliografia
Tartaruga-verde do Pacífico (<i>Chelonia mydas</i>) (Tartaruga aquática de água salgada)	6	<i>Mycobacterium avium</i>	Sistêmico (Granulomas nos pulmões, fígado e rins)	Cativeiro	Espontâneo	(Brock, Nakamura, Miyahara, & Chang, 1976)
Cágado-cinza (<i>Phrynops hilarii</i>) (Tartaruga aquática de água doce)	1	<i>Mycobacterium spp</i>	Cutâneo (Mandíbula e membro posterior) Sistêmico (Granulomas no fígado e baço)	Cativeiro	Espontâneo	(Rhodin & Anver, 1977)
Tartaruga de barro de lábios brancos (<i>Kinosternon leucostomum</i>) (Tartaruga aquática de água doce)		<i>Mycobacterium lepraemurium</i>	Fígado		Experimental	(Rojas-Espinosa, Quesada-Pascual, Estrada-Parra, & Ramirez-Almaraz, 1985)
Tartaruga Australiana de pescoço-cobra (<i>Chelodina longicollis</i>) (Tartaruga aquática de água doce)	2	<i>Mycobacterium marinum</i>	Sistêmico (Granulomas no fígado e baço)		Espontâneo	(Schildiger, Weub & Frank, 1991)
Tartaruga marinha pequena (<i>Lepidochelys kempii</i>) (Tartaruga aquática de água salgada)	1	<i>Mycobacterium chelonae</i>	Cutâneo (Granuloma no membro posterior direito); Osteoartrite (No cotovelo esquerdo, rádio e ulna); Sistêmico (Pulmão,	Cativeiro	Espontâneo	(Greer <i>et al.</i> , 2003)

			fígado, baço, rim e pericárdio).			
Tartaruga de carapaça mole chinesa (<i>Pelodiscus sinensis</i>) (Tartaruga aquática de água doce)	1	<i>Mycobacterium kansasii</i>	Cutâneo (Lesão na carapaça) Sistêmico (Multifocais granulomas em ambos os pulmões)	Cativeiro	Espontânea	(Orós <i>et al.</i> , 2003)
Quelónios	6	<i>Mycobacterium haemophilium</i> (1), <i>Mycobacterium nonchromogenicum</i> (1) e <i>Mycobacterium spp</i> (4)	Granulomas crônicos (4), Histiócito (1), Heterofilo (1)	Cativeiro	Experimental	(Soldati <i>et al.</i> , 2004)
Tartaruga de carapaça mole chinesa (<i>Pelodiscus sinensis</i>) (Tartaruga aquática de água doce)	71	<i>M. marinum</i>	Sistêmico (Granulomas no baço (44), fígado (40), pulmões (38), intestino (16), rins (15), estômago (8) e pâncreas (3)).	Selvagens	Espontâneo	(Hsieh <i>et al.</i> , 2006)
Tartaruga de caixa oriental (<i>Terrapene carolina carolina</i>) (Tartaruga terrestre)	1	<i>Mycobacterium terrae complex</i>	Sistêmico (Granulomas fígado, baço, pulmões e rins); Cutâneo (Granuloma no tecido mole da cauda).	Cativeiro	Espontâneo	(Noyes <i>et al.</i> , 2007)
Jabitu-vermelho (<i>Chelonoidis carbonaria</i>) (Tartaruga terrestre)	4	<i>Mycobacterium spp</i>		Cativeiro	Experimental	(Bernal <i>et al.</i> , 2008)
Tartaruga de orelha vermelha (<i>Trachemys scripta spp</i>) (Tartaruga aquática de água doce)	1	<i>Mycobacterium gordanae</i> tipo 3	Cutâneo (Granulomas plastrão)	Cativeiro	Espontâneo	(Bernal <i>et al.</i> , 2008)

doce)						
Tartaruga espinhosa softshell (Apalone spinifera spinifera) (Tartaruga aquática de água doce)	1	<i>Mycobacterium chelonae</i>	Intravascular (Septicemia e coagulação intravascular disseminada)	Cativeiro	Espontâneo	(M. Murray <i>et al.</i> , 2009)
Tartaruga Flapshelled indiana (Lissemys punctata punctata) (Tartaruga aquática de água doce)	1	<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Sistêmico (Granulomas nos pulmões, fígado, baço, intestino e mesentério)	Cativeiro	Espontâneo	(Sakaguchi <i>et al.</i> , 2011)
Tartaruga-de-Couro (Dermochelys coriacea) (Tartaruga aquática de água salgada)	1	<i>Mycobacterium haemophilum</i>	Sistêmico (Granulomas sistema nervoso, pulmões, fígado, baço, rins, intestino delgado, pâncreas, timo e medula óssea)	Selvagem	Espontâneo	(Donnelly <i>et al.</i> , 2016)
Tartaruga de Hermann (Testudo hermani) (Tartaruga terrestre)	4	<i>M. nonchromogenicum</i>	Sistêmico (Granulomas no baço (1), coração (2), fígado (4), rins (2), pulmões (1), ovário (1) e músculo (1))	Cativeiro	Espontâneo	(Muro <i>et al.</i> , 2020)

No total já foram reportados 101 casos em 15 artigos publicados. Nos quais 73 são de *M. marinum*, 6 de *M. avium*, 6 de *M. nonchromogenicum*, 2 *M. chelonae*, 2 de *M. haemophilum*, 1 de *M. kansasii*, 1 de *M. terrae*, 1 de *M. gordonae* e 1 de *M. ulcerans*. Sendo as restantes espécies não identificadas.

Capítulo II - Micobactérias não-tuberculosas em humanos

As Micobacterioses são um conjunto de patologias de grande relevância em humanos (Mitchell, 2011), havendo duas doenças que, historicamente, se destacam – a tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*) e a lepra (*Mycobacterium leprae*) (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). A colonização por NTM em seres humanos é possível, apesar da infecção clínica ser raramente reportada (Taljanovic, Omar, Hoover & Chadaz, 2019). Estima-se que tem havido um aumento da incidência de NTM na Europa e Estados Unidos da América (Larsson, Bennet, Eriksson, Jonsson, & Ridet, 2019), sendo que a taxa de incidência ronda os 1-2 casos por 100.000 habitantes (Antunes et al., 2012). Mas devido à falta de estudos epidemiológicos (Larsson et al., 2019), e como as micobacterioses por NTM não é uma doença de declaração obrigatória, desconhece-se a verdadeira incidência deste grupo de bactérias (Antunes et al., 2012).

Com o avanço de técnicas moleculares tem havido um aumento da identificação de micobactérias (Sadikot, 2019). A espécie patogénica mais frequente em humanos é *Mycobacterium avium complex* (MAC) (Larsson et al., 2019). Incluídas neste complexo estão a *M. avium* e *M. intracellulare* (Sadikot, 2019). Para além destas existem outras NTM capazes de provocar infecção (Sadikot, 2019), havendo diferentes vias de entrada e diferentes manifestações clínicas, dependendo da espécie de micobactéria (Larsson et al., 2019). Das NTM mais frequentes é de destacar a *M. marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, sendo estas últimas particularmente típicas em humanos (Taljanovic et al., 2019).

Epidemiologia de NTM em humanos

As NTM, apesar de pouco frequentes em humanos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), têm um carácter oportunista e podem causar doença (E Tortoli, 2009), principalmente em hospedeiros imunocomprometidos, crianças, indivíduos em tratamento com imunossuppressores, diabetes não controlados (Pinitpuwadol et al., 2018) ou com outros fatores predisponentes tais como tabagismo, anomalias das vias aéreas, abusos de substâncias, entre outras (Arena et al., 2004). Embora haja casos reportados de NTM em indivíduos sem qualquer tipo de fator predisponente identificado (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). A média de idade dos indivíduos afetados em adulto ronda os 60 anos, podendo variar (Dabó et al., 2015) e nas crianças a idade média é de 5 anos (Larsson et al., 2019).

As infeções por NTM estão fortemente associadas à preexistência de doenças pulmonares, tais como a doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) e bronquiectasia (Larsson et al., 2019), no entanto a interação entre o hospedeiro, a espécie patogénica e o ambiente influencia a infecção (Arena et al., 2004). Não estando descrita a transmissão de pessoa para pessoa, as principais vias de entrada são a inalação e a penetração da mucosa ou penetração cutânea (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014),

sendo o ambiente a potencial fonte de micobactérias, (Larsson *et al.*, 2019). Nas crianças a via de entrada mais provável são as mãos ou objetos que levam à boca (Tortoli, 2009).

Muitas NTM, de crescimento rápido, estão relacionadas com infeções pós-traumáticas, infeções pós-cirúrgicas (E Tortoli, 2009), por contacto com animais ou por contacto com instrumentos médicos contaminados (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), como catéteres (Tortoli, 2009). Embora raro, já está descrita a ocorrência de infeção por NTM em humanos, transmitida por contacto com répteis (Bouricha, Castan, Duchene-parisi, & Drancourt, 2014).

Cada espécie de micobactéria tem a temperatura e ambiente ótimos característicos, sendo frequentemente isoladas nos meios aquáticos (Mitchell, 2011). Santos *et al.*, 2005 detetou e identificou micobactérias atípicas na rede pública de água na cidade de Lisboa, considerando-se assim uma potencial via de entrada, principalmente em pessoas imunocomprometidas e comprovando a sua elevada resistência (Santos *et al.*, 2005). Há algumas micobactérias tipicamente relacionadas com ambientes aquáticos, como é o caso da *M. ulcerans*, que é transmitida principalmente por via percutânea através de ambientes subaquáticos ou picadas de mosquitos (Sakaguchi *et al.*, 2011). Outro exemplo é a *M. marinum*, em 1961, no Colorado, houve um aumento exponencial de lesões cutâneas causadas por *M. marinum* envolvendo piscinas, em que as lesões foram apelidadas de “granuloma de piscina” (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014) ou “*Fishtank granuloma*” (Bouricha *et al.*, 2014), embora esta bactéria possa ser isolada de outros ambientes aquáticos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). “*Fish handler’s*” é o nome genérico usado para descrever lesões associadas com infeções por *M. marinum*, associados a indivíduos que têm contacto direto (Bouricha *et al.*, 2014), sobretudo com espécies de peixe de aquário e aquacultura, embora o contacto com répteis e anfíbios aquáticos possam ser uma fonte de contágio (Mitchell, 2011).

Quadro clínico de NTM em humanos

Infeções Pulmonares

As infeções pulmonares, contraídas através de inalação de aerossóis, são a localização mais frequente das NTM, (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), principalmente em adultos (Amir, 2010), (E Tortoli, 2009) e agrupam-se em três formas clínicas: forma cavitária fibronodular, forma nodular bronquiectásica e pneumonia de hipersensibilidade (Antunes *et al.*, 2012) (Tabela 3).

Tabela 3 - Formas clínicas de infecção pulmonar por micobacteriose, em humanos.

Forma cavitária fibronodular	Forma nodular bronquiectásica	Pneumonia de hipersensibilidade
<p>- Fibrose pulmonar extensa (Larsson <i>et al.</i>, 2019)</p> <p>- Insuficiência respiratória, ocorrendo sobretudo em homens com mais de 50 anos e em indivíduos fumadores, alcoólicos ou com doença pulmonar obstrutiva crónica (DPOC) (Antunes <i>et al.</i>, 2012).</p> <p>As micobactérias mais frequentes são : MAC (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), <i>M. kansasii</i> e <i>M. malmoense</i> (Larsson <i>et al.</i>, 2019)</p>	<p>Afeta sobretudo em mulheres caucasianas com mais de 70 anos de idade sem história de doença pulmonar e tem uma progressão lenta (Antunes <i>et al.</i>, 2012).</p> <p>As micobactérias frequentemente associadas a esta forma são: MAC, <i>M. abscessos</i> e <i>M. kansasii</i> (Antunes <i>et al.</i>, 2012)</p>	<p>Ocorre principalmente em indivíduos jovens e não fumadores, estando associada a termas, spas e piscinas públicas aquecidas devido a temperatura e humidade ideal ao crescimento de NTM (Antunes <i>et al.</i>, 2012).</p> <p>MAC é o agente mais frequente nesta forma de manifestação clinica (Antunes <i>et al.</i>, 2012)</p>

DPOC – Doença pulmonar obstrutiva crónica

MAC – Complexo *M. avium*

NTM – Micobactérias não-tuberculosas

Infeções cutâneas e de tecidos moles

As infeções por NTM podem mimetizar a tuberculose da pele (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). As infeções cutâneas provocadas por micobactérias são tipicamente caracterizadas por lesões granulomatosas desenvolvidas poucas semanas depois da infeção (Tortoli, 2009), podendo também estar associadas a abscessos, pústulas, placas eritematosas em diferentes zonas do corpo (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), mas também fasciites e piomiosites (Taljanovic *et al.*, 2019). Aquando da infeção cutânea, os linfonodos podem também encontrar-se afetados e haver evolução para úlcera, celulite e disseminação cutânea (E Tortoli, 2009). Na manifestação clínica das lesões pode ocorrer dor ou prurido (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). A bactéria isolada mais frequentemente nestas lesões é a *M. marinum*, mas também outras micobactérias já foram reportadas tais como a *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. haemophilum* e *M. ulcerans* (E Tortoli, 2009), ora descritas.

- *M. marinum* está normalmente associada a granulomas solitários, mas também a úlceras ou placas verrucosas nas zonas mais dispostas a trauma - dedos, mãos e joelhos - com história de exposição a água (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). Podendo ocorrer disseminação das lesões (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014).
- *M. haemophilum* está normalmente associada a lesões cutâneas (Pinitpuwadol *et al.*, 2018), principalmente nas extremidades devido à sua temperatura ótima de crescimento ser ligeiramente inferior à temperatura corporal (Donnelly *et al.*, 2016), cerca de 30-32°C (Millar, Hons, Bulliard, Balachandran, & Maloof, 2007). Apesar de tipicamente os sinais comuns serem cutâneos, há casos reportados de infecção por *M. haemophilum* com envolvimento ocular (Pinitpuwadol *et al.*, 2018). Reforçando assim a importância dos oftalmologistas considerarem as micobactérias atípicas como diagnóstico diferencial quando ocorrem problemas oculares (Pinitpuwadol *et al.*, 2018).
- *M. chelonae* e *M. fortuitum* são micobactéria não-tuberculosas de crescimento rápido, envolvidas num largo espectro de doenças clínicas em humanos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). Estão normalmente associadas ao tecido cutâneo, osso e articulações (E Tortoli, 2009), podendo provocar celulite, nódulos, úlceras com exsudatos purulenta ou serosanguinolentos e extensa necrose subcutânea (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014)
- *M. ulcerans* é o agente etiológico da “Úlcera de Buruli”, como é designada em África e outros países, ou como “Barnesdale” na Austrália (Larsson *et al.*, 2019), sendo a terceira doença mais comum causada por micobactérias a seguir à tuberculose e lepra (E Tortoli, 2009). Nesta patologia formam-se úlceras largas, indolores, progressivas com lesões necróticas da pele que penetram no tecido subjacente (Larsson *et al.*, 2019), normalmente ocorrem nos braços ou nas pernas (Sakaguchi *et al.*, 2011). É característica de climas tropicais e afeta crianças e adultos jovens e, ao contrário das outras micobactérias típicas, secreta um fator de virulência - uma potente toxina - que provoca lesão no tecido e inibe a resposta do sistema imunitário (Larsson *et al.*, 2019).

Infeções ósseas e articulares

As infeções músculo-esqueléticas causadas por NTM assemelham-se à tuberculose (Taljanovic *et al.*, 2019) e são principalmente provocadas por traumas ou intervenções cirúrgicas (E Tortoli, 2009). Estas infeções podem estar presentes em osteomielites ou artrites sépticas, sendo a osteomielite causada por NTM similar a uma infeção piogénica, caracterizada por uma progressão lenta (Taljanovic *et al.*, 2019). Estão descritas várias espécies de micobactérias associadas a infeções ósseas e articulares, como por exemplo a *M. haemophilum*, MAC (E Tortoli, 2009) e *M. kansasii* (Orós *et al.*, 2003).

Infeções dos linfonodos

Nos seres humanos as micobactérias não tuberculosas também podem provocar lesões nos nódulos linfáticos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). Estas infeções afetam os linfonodos cervicais, submandibulares, pré-auriculares (Amir, 2010), inguinais e axilares (Tebruegge *et al.*, 2016) de modo unilateral, em crianças sobretudo entre um e cinco anos (Amir, 2010). As NTM principalmente associadas a doenças dos linfonodos são: complexo *M. avium* (E Tortoli, 2009), *M. scrofulaceum* (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), *M. haemophilum*, *M. gordonae*, *M. chelonae*, *M. fortuitum* e *M. kansasii* (Amir, 2010).

Tebruegge *et al.*, 2016 descreve sazonalidade nas infeções cutâneas, nas infeções de tecido mole e linfadenites por micobactérias em crianças, havendo menor incidência no outono e maior no final do inverno para primavera.

Infeções disseminadas

Para além das infeções anteriormente descritas podem ocorrer também infeções generalizadas principalmente em indivíduos imunocomprometidos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014) pois ocorre falha na imunidade humoral e imunidade celular (Antunes *et al.*, 2012). A falta de produção de Interleucina 12 (IL-12) e por consequência a não estimulação de Interferão-gama (IFN- γ) e a não produção de Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) impossibilita a morte de patógenos intracelulares predispondo a doença disseminada (Antunes *et al.*, 2012). Atualmente o maior foco são indivíduos que estejam em fase de tratamento com imunossuppressores ou que padeçam de uma imunodeficiência genética (E Tortoli, 2009), mas também pode afetar crianças (Taljanovic *et al.*, 2019). As manifestações clínicas são inespecíficas – febre, tosse, dor abdominal, diarreia, etc.. (E Tortoli, 2009). *M. avium* (E Tortoli, 2009), *M. fortuitum* (Larsson *et al.*, 2019) e *M. kansasii* são as principais espécies associadas a estas infeções (Mehrian *et al.*, 2019).

Diagnóstico de NTM em humanos

Devido aos sintomas inespecíficos e sobrepostos com doenças subjacentes, a infeção causada por NTM pode ser tardiamente diagnosticada, causando uma progressão da doença e assim um tratamento mais complicado (Larsson *et al.*, 2019). O diagnóstico requer um alto índice de suspeita, ou seja, aparência clínica, história de exposição e fatores predisponentes do indivíduo (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014).

O diagnóstico presuntivo faz-se através da identificação de bacilos álcool-ácido resistentes nas proximidades das lesões (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). O diagnóstico definitivo requer o isolamento e identificação de micobactéria (Larsson *et al.*, 2019). A colheita de amostra e posterior

cultura positiva associada aos sinais clínicos é o critério mais conclusivo para o diagnóstico de infecção por NTM (Larsson *et al.*, 2019). Critérios para o diagnóstico de NTM (Antunes *et al.*, 2012):

- Duas ou mais culturas de expetoração positivas (Antunes *et al.*, 2012),
- Uma ou mais culturas de lavado brônquico ou broncoalveolar positiva (Antunes *et al.*, 2012),
- Biópsia com bacilos ácido-álcool resistentes e/ou granulomas e cultura positiva (Antunes *et al.*, 2012).

Sendo necessário ter em conta que o isolamento de micobactérias não-tuberculosas em amostras respiratórias pode não indicar doença mas sim contaminação de amostras ou colonização transitória de pacientes (Dabó *et al.*, 2015).

Tratamento de NTM em humanos

Não existe um tratamento *standard* para as infeções por micobactérias não-tuberculosas (Taljanovic *et al.*, 2019). A terapia deve ser ajustada de acordo com as condições do indivíduo infetado (Larsson *et al.*, 2019). Na Tabela 4 está descrito as diferenças no tratamento de micobactérias de crescimento lento e micobactérias de crescimento rápido.

Tabela 4 - Tratamento de micobactérias de crescimento lento e crescimento rápido.

Micobactérias não-tuberculosas de crescimento lento	Micobactérias não-tuberculosas de crescimento rápido
São suscetíveis a fármacos antituberculosos (Pinitpuwadol <i>et al.</i> , 2018), sendo indicado um tratamento com rifampicina, etambutol ou macrólidos e amicacina, em casos de doença grave (Larsson <i>et al.</i> , 2019). A duração recomendada é de até 12 meses após a primeira cultura negativa (Zellera, Campainhab, & Duarte, 2013) e caso seja necessário o uso de amicacina é administrado nos primeiros 3 meses (Larsson <i>et al.</i> , 2019). Cada tratamento é específico à sensibilidade da espécie identificada (Taljanovic <i>et al.</i> , 2019).	São normalmente resistentes a fármacos antituberculosos e outros antibióticos (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014), sendo o tratamento principalmente baseado nos resultados do teste de sensibilidade a antibióticos (Larsson <i>et al.</i> , 2019). Os fármacos recomendados para <i>M. fortuitum</i> são a amicacina, sulfonamidas e doxiciclina e para <i>M. chelonae</i> são a amicacina, eritromicina e doxiciclina (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). Em casos de abscessos e úlceras pode ser necessário o desbridamento cirúrgico (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014).

Um paciente é considerado curado quando apresenta mais de 12 meses de culturas negativas após a conversão micobacteriológica (Larsson *et al.*, 2019). Esta é o tempo decorrido entre a primeira amostra com cultura positiva e a primeira negativa (Zellera *et al.*, 2013). Os exames culturais são realizados mensalmente (Zellera *et al.*, 2013).

Prognóstico

O prognóstico pode variar, dependendo da precocidade do diagnóstico, da implementação de terapia apropriada e do estado de imunidade do paciente (Larsson *et al.*, 2019). Nos casos reportados por Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014 houve melhorias significativas das lesões em 71% dos casos, após tratamento com antibióticos apropriados.

Estudo epidemiológico de micobactérias na população portuguesa

Entre 1997 e 2004 foram isoladas NTM em 102 doentes no Porto, maioritariamente do sexo masculino, com idade média de 63 anos (Marinho, Fernandes, Carvalho, Pinheiro, & Gomes, 2008), sendo que a NTM mais isolada foi MAC (Marinho *et al.*, 2008).

Outro estudo realizado em Lisboa em 510 indivíduos com sintomatologia pulmonar, isolou-se NMT's em 58 pacientes, correspondendo a 11%, principalmente em mulheres, com média de idade de 55 anos (Amorim, Macedo, Lopes, Rodrigues, & Pereira, 2010). Neste estudo ficaram reportadas as espécies de micobactérias atípicas com provável maior incidência na zona de Lisboa, por ordem de frequência: MAC, *M. fortuitum*, *M. gordonae*, *M. kansasii*, *M. chelonae* e *M. peregrinum* (Amorim *et al.*, 2010).

Noutro estudo, realizado em 2015 no norte de Portugal, em 202 indivíduos, todos com fatores predisponentes a micobacteriose, foram isoladas 407 espécies de micobactérias não-tuberculosas (Dabó *et al.*, 2015). Neste estudo as principais micobactérias isoladas foram: MAC, *M. gordonae*, *M. peregrinum* e *M. chelonae*, sendo mais de metade pertencentes ao complexo *M. avium* (Dabó *et al.*, 2015).

Caso reportado de *M. marinum* proveniente de contacto com répteis

Um indivíduo com 19 anos, não pertencente a um grupo de risco foi diagnóstico com infeção por *M. marinum*, o único sinal clínico era um nódulo no metacarpo da mão direita, que já persistia há 40 dias (Bouricha *et al.*, 2014). Era tutor de vários tipos de répteis, incluindo dragão de água chinês (*Physignathus cocincinus*), cobra-fita (*Thamnophis sauritus*) e jiboia constritora (*Boa constrictor*), mas no seu trabalho também contactava com várias espécies de serpentes (Bouricha *et al.*, 2014). A lesão curou por completo com o tratamento implementado (Bouricha *et al.*, 2014).

Capítulo III - Risco zoonótico e a sua prevenção em humanos e quelónios

Nas últimas duas décadas tem havido um aumento na aquisição de espécies não-domésticas, como animais de estimação, ditos novos animais de companhia (NAC) (Grant, Montrose, & Wills, 2017) sendo as tartarugas dos mais frequentes (Ebani, 2017). Um animal doméstico é definido como um animal mantido para companhia ou prazer (Grant *et al.*, 2017) e algumas espécies possuem características comportamentais e morfológicas que apresentam barreiras intransponíveis à domesticação, tal como os répteis (Zeder, 2015).

A tendência atual para manter espécies exóticas como animais de estimação pode apresentar vantagens e desvantagens (Pasmans *et al.*, 2017). O aumento do número de quelónios em cativeiro não se reflete no aumento do conhecimento público das necessidades destes animais (Grant *et al.*, 2017), causando problemas ao nível da sua saúde e do seu bem-estar já que cada espécie de réptil requer do seu tutor cuidados altamente específicos (Ebani & Fratini, 2005), para além de haver pouca disponibilidade de veterinários devidamente formados em clínica de animais exóticos (Grant *et al.*, 2017). Esta tendência em adquirir NAC's também influencia o bem-estar, a mortalidade e a conservação dos quelónios, devido ao aumento do comércio ilegal, à exploração da população natural, à introdução de espécies invasoras e à propagação de agentes patogénicos capazes de infetar outras espécies domésticas ou selvagens (Pasmans *et al.*, 2017).

Os seres humanos beneficiam da interação com animais de companhia, promovendo saúde, bem-estar psicossocial e recuperação de algumas condições sérias (Walsh, 2009), sejam animais interativos ou não (Pasmans *et al.*, 2017). E apesar de muitas vezes a relação com estes animais ser unidirecional, não havendo benefício imediato para o animal, pode haver vantagens em manter quelónios em cativeiro, tais como o aumento do interesse e dissipação de preconceito, permitindo a educação pública e facilidade em aceder a informações sobre manuseio adequado das diferentes espécies (Pasmans *et al.*, 2017). Para os veterinários com especial interesse em medicina de répteis em cativeiro este aumento é algo positivo (Mitchell, 2011), bem como para investigações e conservação, permitindo a criação em cativeiro e, conseqüentemente, uma redução na importação de espécies capturadas na natureza (Pasmans *et al.*, 2017).

Potencial Zoonótico

Todos os quelônios, domésticos ou selvagens, doentes ou assintomáticos, podem ser portadores de micobactérias atípicas (Ebani, 2017), levando a uma grande preocupação em saúde pública dado (Mitchell, 2012). As micobactérias atípicas têm um alto potencial zoonótico devido ao seu elevado grau de crescimento, tolerância a diferentes temperaturas e graus de humidade, e capacidade de colonização em diferentes ambientes, tanto naturais como artificiais (Mitchell, 2011), o que representa um risco, não só para os seus tutores mas também para os veterinários, trabalhadores de laboratório ou de jardins zoológicos e outros parques que alberguem quelônios (Ebani, 2017).

A abrangência cada vez mais global do comércio de animais selvagens, combinado com o rápido e moderno transporte, provoca um aumento do potencial de transmissão inter-espécies de agentes infecciosos (Karesh, Cook, Bennett, & Newcomb, 2005) provocando também a introdução de novas estirpes de bactérias (Ebani & Fratini, 2005).

Prevalência de micobacteriose em quelônios

As micobacteriose em répteis não é considerada uma doença comum, mas alguns estudos epidemiológicos sugerem o contrário (Soldati *et al.*, 2004) e tal ocorre, provavelmente, devido a muitos casos não diagnosticados nem acompanhados por médicos veterinários em virtude de diversos motivos: restrições financeiras por parte do tutor, falta de experiência do veterinário ou capacidade limitada de realizar um correto diagnóstico (Mitchell, 2012). Normalmente as infeções por micobactérias estão associadas a infeções por fungos (Donnelly *et al.*, 2016; Greer *et al.*, 2003; Orós *et al.*, 2003; Sakaguchi *et al.*, 2011) ou outros agentes patógenos (Nardini, Florio, Girolamo, & Gustinelli, 2014; Soldati *et al.*, 2004) podendo ocultar a infeção pelas micobactérias (Pasmans *et al.*, 2008).

Embora haja muitas limitações na notificação de infeções por NTM, os casos por micobactérias atípicas em humanos têm aumentado (Marras & Daley, 2002), e tal facto pode estar relacionado com:

- O hospedeiro, devido ao aumento de pacientes com vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Marras & Daley, 2002) ou pelo aumento de incidência de tuberculose e conseqüente diminuição da imunidade e aumento da suscetibilidade a outras micobactérias (Dabó *et al.*, 2015). Nos últimos anos tem havido também um aumento de crianças com micobacteriose, o que pode ter como causa a descontinuidade, em alguns países, da vacinação contra a tuberculose (vulgar vacina Bacilo Calmette-Guérin (BCG))(Amir, 2010);
- O agente patogénico, como o aumento da virulência das NTM (Marras & Daley, 2002);
- Ou o avanço nas técnicas laboratoriais (Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014).

Prevenção em humanos

Os quelônios são animais que, ao contrário de outros répteis, normalmente são vistos como animais inofensivos e seguros, principalmente as pequenas tartarugas que são de fácil acesso e relativamente baratas (Ebani, 2017). Os tutores, por norma, desconhecem as especificidades acerca do seu manejo (Grant *et al.*, 2017) dando origem a elevados níveis de *stress* e, conseqüentemente, a infecções por micobactérias atípicas (Muro *et al.*, 2020). É essencial a sensibilização dos tutores para o bem-estar animal, sendo esta a melhor forma de prevenir a transmissão de micobacterioses por quelônios (Ebani & Fratini, 2005).

De modo a minimizar o potencial risco zoonótico os tutores devem ser educados acerca da higiene necessária (Ebani & Fratini, 2005) e dos devidos cuidados a ter para prevenir transmissões, tais como (UCDAVIS, 2015):

- Lavar as mãos e braços ou usar desinfetantes adequados após o manuseamento dos animais ou dos seus locais de permanência (Steedman, Arena, & Warwick, 2012) sendo esta a medida preventiva mais eficaz (Mitchell, 2011), particularmente se existem feridas, arranhões ou mordeduras causadas pelo animal (Ebani & Fratini, 2005);
- Nunca fumar, beber ou comer na divisão do animal ou antes de lavar as mãos (UCDAVIS, 2015);
- Manter as tartarugas afastadas de cozinhas e áreas de preparação alimentar (Ebani & Fratini, 2005);
- Usar luvas: estas devem ser colocadas quando se limpam as instalações dos animais (Ebani & Fratini, 2005), principalmente quando as mãos irão ficar submersas na água por um longo período de tempo (UCDAVIS, 2015), ou haja feridas (Mitchell, 2011).

Os riscos de transmissão de micobactérias por tartarugas não se restringem só aos tutores adultos (Ebani, 2017). As crianças gostam muito de brincar com estes animais, tido como seguros e inofensivos, e podem assim contaminar-se (Ebani, 2017). Para além dos tutores também existe risco profissional para os médicos veterinários (Grant *et al.*, 2017) e criadores ou cuidadores de tartarugas ou de peixes (Hsieh *et al.*, 2006). É fundamental que os profissionais que trabalhem com quelônios o mencionem ao seu médico (UCDAVIS, 2015).

Prevenção em quelônios

O manejo de tartarugas em cativeiro é um desafio (Grant *et al.*, 2017). Um ano após a detenção destes animais, a taxa de mortalidade de tartarugas terrestres e de tartarugas aquáticas ou semiaquáticas ronda 2.7% e 7.3%, respetivamente (Robinson, John, Griffiths, & Roberts, 2015). Este número aumenta de sobremaneira, para cerca de 75%, quando se considera o processo de captura, transporte e criação sem acautelar as condições de bem-estar animal (Grant *et al.*, 2017).

Qualquer ser humano que mantém animais em cativeiro deve protegê-los do sofrimento desnecessário e garantir o seu bem-estar incluindo assim o seu estado físico e mental (Pasmans *et al.*, 2017). Para estabelecer as condições ideais dos animais mantidos em cativeiro foi criado em 1979 o conceito das “5 Liberdades” pela *Farm Animal Welfare Council* (Pasmans *et al.*, 2008):

1. Liberdade contra a fome, sede e má nutrição (Webster, 2001);
2. Liberdade de desconforto físico e térmico (Manteca, Mainau, & Temple, 2012);
3. Liberdade de dor, lesão ou doença (Webster, 2001);
4. Liberdade para expressar o comportamento normal (Webster, 2001);
5. Liberdade de não experienciar medo e angústia (Manteca *et al.*, 2012).

Nos répteis em cativeiro as “5 Liberdades” não são possíveis de cumprir (C. Warwick *et al.*, 2017). O bem-estar dos quelônios em ambiente doméstico está em risco devido à combinação de vários fatores, incluindo a escassez de informação necessária para o devido cuidado (Grant *et al.*, 2017), por falta de educação da população (Ebani, 2017), incorreta criação e expectativas irreais por parte dos tutores (Grant *et al.*, 2017). Por consequência ocorre normalmente mau manejo o que provoca elevados níveis de *stress* (Ebani, 2017), dificilmente reconhecidos pelos tutores (Grant *et al.*, 2017) e, assim, infecções por micobactérias atípicas potenciais (Muro *et al.*, 2020).

Como medida profilática os tutores devem respeitar o período de quarentena, deixando os animais separados num aquário fácil de limpar, por pelo menos 90 dias e limpar e desinfetar todos os instrumentos entre os animais residentes e os novos animais (Pasmans *et al.*, 2008). Os animais devem ser periodicamente analisados pelos médicos veterinários (Ebani, 2017). O processo de quarentena é bastante importante, especialmente em animais adquiridos em lojas ou no comércio de grande escala uma vez que são ambientes que induzem elevados níveis de *stress* no animal (Pasmans *et al.*, 2008). É importante tomar medidas exigentes de higiene (Muro *et al.*, 2020) mas várias micobactérias atípicas são resistentes à atividade de alguns desinfetantes e biocidas, como por exemplo compostos organomercuriais, cloro e glutaraldeído alcalino (Brown-elliott & Wallace, 2002). Estas bactérias são capazes de colonizar (M. Murray *et al.*, 2009) e de se replicar em biofilme (Santos *et al.*, 2005), portanto quanto mais tempo o desinfetante estiver em contacto com a superfície maior é a eficácia de ação (Pasmans *et al.*, 2008). Desinfetantes baseados em fenol e compostos de amónia quaternária não são apropriados para desinfetar aquários de répteis (Pasmans *et al.*, 2008).

O risco de micobacteriose pode ser minimizado ao limitar o *stress* em cativeiro, permitindo as condições ideais (Mitchell, 2011). As condições ótimas diferem entre as tartarugas aquáticas e as tartarugas terrestres (Wappel & Schulte, 2004), os quais são representados na Tabela 5.

Tabela 5 - Condições ideais de manejo de quelônios.

Maneio	Tartarugas aquáticas ou semiaquáticas	Tartarugas terrestres
Condições do aquário/terrário	<p>Aquário de fácil limpeza</p> <ul style="list-style-type: none"> - O comprimento da carapaça não deve exceder 25% da área de superfície do aquário (Johnson, 2004) 	<ul style="list-style-type: none"> - Idealmente em uma zona exterior, com enriquecimento ambiental, como por exemplo troncos, pedras e vegetação (Wappel & Schulte, 2004)
Qualidade da água	<ul style="list-style-type: none"> - Qualidade da água (pH, teor em nitrogênio) (Wappel & Schulte, 2004), - Mudar a água, no mínimo uma vez por semana (Johnson, 2004) de forma parcial para evitar mortalidade por <i>stress</i> (Wappel & Schulte, 2004). - Alimentação deve ser oferecida noutra compartimento para evitar a degradação da qualidade da água (Tseng, 2020) e os alimentos podem ser uma potencial via de exposição a micobactérias (M. Murray <i>et al.</i>, 2009). - Usar sedimento no fundo do aquário pode provocar problemas no sistema de filtração e causar deterioração da água (Johnson, 2004). 	
Temperatura	<ul style="list-style-type: none"> - Temperatura ideal da água varia de acordo com as espécies de quelônios mas a maioria, que é mantida em cativeiro, requer temperaturas entre os 24°C e 27°C. (Johnson, 2004). É importante haver aquecedores e monitorização através de um termómetro flutuante (Johnson, 2004). - A zona fora de água é um ponto importante para espécies semiaquáticas (Wappel & Schulte, 2004). Podem-se usar rochas ou outros materiais não-orgânicos que devem ser colocados debaixo de uma lâmpada de aquecimento, pelo menos durante 12 horas por dia, designando-se de "<i>hot spot</i>", que deve estar 10-15°C acima da temperatura da água (Johnson, 2004). 	
Radiação UV	<ul style="list-style-type: none"> - A radiação UVB (290-320 nm) é necessária para a síntese de vitamina D3 (Acierno, Mitchell, Roundtree, & Zachariah, 2006) e UVA (320-400nm) para estímulo comportamental (Brames, 2007), sendo que as tartarugas que estão no exterior têm exposição natural às radiações (Johnson, 2004). As luzes ultravioleta, UVA e UVB, devem ser colocadas numa altura não superior a 45 cm, idealmente a 25-30 cm (Tseng, 2020) pelo menos 12 horas por dia (Johnson, 2004), com monitorização por termómetro (Brames, 2007). Devem ser substituídas após 6 meses ou 1 ano, dependendo da marca (Brames, 2007). 	
Alimentação	<ul style="list-style-type: none"> - A alimentação varia de acordo com as tartarugas e a sua idade (Wappel & Schulte, 2004). Atualmente existem dietas comerciais com um bom equilíbrio de nutrientes (Johnson, 2004) embora a maioria da sua dieta não deva consistir nestes <i>pellets</i> comerciais nem em camarões desidratados (Wappel & Schulte, 2004) - As tartarugas semiaquáticas omnívoras, os jovens alimentam-se mais de carne, enquanto os adultos se tornam mais herbívoros (Wappel & Schulte, 2004), principalmente as fêmeas (Johnson, 2004). Os adultos devem ser alimentados uma a três vezes por semana e os jovens diariamente (Wappel & Schulte, 2004). 	<p>As tartarugas terrestres devem ter uma alimentação com 85% vegetais, 10% frutas e 5% proteínas animais ou outros compostos, como por exemplo as rações comerciais (Wappel & Schulte, 2004). Os adultos devem ser alimentados três vezes por semana enquanto os jovens devem receber uma refeição diariamente (Wappel & Schulte, 2004)</p>

Infeções inter-e espécie

As micobactérias atípicas podem causar infeções inter-espécie (Pasmans *et al.*, 2017). É importante que outros animais domésticos, como o cão ou exóticos como as aves, não estejam em contacto com quelónios ou com as suas instalações e dejetos, de modo a reduzir as oportunidades de transmissão (Ebani & Fratini, 2005).

Papel do médico veterinário e sensibilização da comunidade médica

Os médicos veterinários têm um papel importante no aconselhamento dos tutores em relação às diferentes espécies animais (Mitchell, 2011), que muitas vezes não estão devidamente esclarecidos (Grant *et al.*, 2017). A educação e sensibilização por parte dos médicos veterinários, aos tutores (Ebani, 2017), e mesmo dos funcionários das clínicas, são fundamentais (Mitchell, 2012).

As micobactérias atípicas têm um potencial risco zoonótico (Mitchell, 2012), portanto na primeira consulta devem ser discutidas as circunstâncias que promovem o bem-estar, designadamente no que diz respeito ao maneo, dieta, higiene e cuidados humanos (Wappel & Schulte, 2004). O veterinário é uma peça fundamental para promover a saúde quer dos quelónios inseridos no ambiente doméstico, quer dos animais (Pasmans *et al.*, 2008), ou dos seres humanos que com eles co-habitam (Mitchell, 2012). Por isso deve dirigir a informação, através de recomendações para tartarugas em cativeiro, e fornecer instruções sobre o devido cuidado desses quelónios (Bosch, Tauxe, & Behraves, 2016).

Os médicos veterinários devem considerar como diagnóstico diferencial, no caso de doença granulomatosa em quelónios, as micobactérias atípicas (Mitchell, 2012). O desconhecimento da flora presente nos quelónios pode ser limitador de diagnósticos mais precisos (Pasmans *et al.*, 2008), sendo essencial formação contínua a partir de bibliografia atualizada (Mitchell, 2011).

A consciencialização de profissionais de saúde sobre os possíveis agentes patogénicos zoonóticos de quelónios e os principais sinais e sintomas em humanos é importante para a prevenção e controlo de doenças (Clifford Warwick, Arena, & Steedman, 2013). Para os grupos mais susceptíveis como as crianças e os doentes imunocomprometidos, as micobactérias constituem um especial perigo (Pinitpuwadol *et al.*, 2018), logo os médicos de família e os médicos pediatras são um importante meio de educação à cerca do possível risco que os quelónios constituem (Bosch *et al.*, 2016).

Capítulo IV – Conclusão

Ao longo dos anos as tartarugas tornaram-se um animal frequentemente encontrado em ambientes domésticos, mas a falta de informação continua a ser um problema. Devido ao manejo inadequado, à ausência de conhecimento e, por vezes, à falta de diligência, os tutores, alguns profissionais de saúde, tanto médicos como veterinários, e mesmo os profissionais que contactem com tartarugas não têm consciência dos riscos zoonóticos que estas acarretam.

A Micobacteriose é uma doença importante em todo o mundo, sendo que tuberculose e lepra são as mais conhecidas. Embora ainda negligenciadas, as micobactérias não-tuberculosas têm sido cada vez mais reportadas, principalmente, no caso dos quelónios. Embora considerados animais resistentes a estas bactérias, são potenciais fontes de NTM e em condições de *stress* pode ocorrer excreção e conseqüentemente aumentar a probabilidade de transmissão ao humano. De forma a minimizar o risco zoonótico a redução de *stress* é fulcral principalmente associado a cativeiro. Primeiramente devem ser educados os veterinários e todos os profissionais que contactem com quelónios, como por exemplo profissionais de laboratório e indivíduos envolvidos no comércio de tartarugas, para posteriormente serem capazes de ensinar os tutores sobre o correto manejo e boas práticas com o objetivo de atenuar os riscos de exposição. Para além da apropriada educação, os veterinários têm um papel importante no correto diagnóstico de micobacteriose.

As MAC, *M. avium*, *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. kansasii*, *M. haemophilum* e *M. ulcerans* são micobactérias não-tuberculosas igualmente encontradas em humanos e em quelónios (Amorim *et al.*, 2010; Bouricha *et al.*, 2014; Mitchell, 2012; Pinitpuwadol *et al.*, 2018; Sindhvananda & Kullavanijaya, 2014). O que pode ser um ponto a considerar na transmissão de micobacterioses de tartarugas para o Homem tornando-se um problema de saúde pública. Embora haja baixa prevalência de NTM em humanos, tem havido um aumento de casos reportados, mostrando-se fundamental para a crescente consciencialização da problemática de micobacteriose. Esta baixa prevalência tem causas heterogêneas, havendo autores que acreditam que estes organismos são inofensivos, enquanto outros apontam a dificuldade de diagnóstico (E Tortoli, 2009). Os seres humanos imunocomprometidos e as crianças são as populações mais vulneráveis (Tebruegge *et al.*, 2016; E Tortoli, 2009). As NTM são bactérias ambientais resistentes a desinfetantes existindo várias fontes de transmissão para os humanos, destacando-se o meio aquático, incluindo piscinas e rede de água pública, material médico contaminado e animais portadores (Bouricha *et al.*, 2014; Santos *et al.*, 2005; E Tortoli, 2009)

Zuercher, Waridel, Monnier, & Cherpillod, 2011 descreve um caso de infeção do saco lacrimal em uma criança imunocompetente por *M. haemophilum*, nesta situação as vias de entrada poderiam ter sido oral ou conjuntival. Este caso enfatiza a importância da lavagem das mãos, especialmente em crianças que, frequentemente, levam as mãos e os objetos à boca e também obriga a uma grande reflexão acerca da presença de quelónios, por exemplo, em infantários e creches.

Na consulta da bibliografia que suporta este trabalho de revisão, não foram encontrados estudos que relacionem diretamente a transmissão de NTM em quelónios para humanos. No entanto existe um caso reportada da mesma classe de animais, os répteis, que provocou um granuloma por micobacteriose num ser humano (Bouricha *et al.*, 2014). Este caso aumenta a preocupação com a possibilidade de transmissão tornando-se fundamental a realização de mais estudos correlacionando micobactérias não-tuberculosas em humanos e quelónios em ambiente doméstico. Desconhece-se a verdadeira prevalência atual de micobacteriose em quelónios e humanos. Por um lado, em humanos existem poucos diagnósticos pois os clínicos podem não estar muito conscientes da possibilidade de infecção por NTM, ou, por outro lado, observa-se escassez de estudos em grande escala (Dabó *et al.*, 2015). Por outro, em quelónios há um desconhecimento generalizado quanto à epidemiologia desta doença.

Em Portugal há estudos epidemiológicos do centro e norte do país, que identificaram as espécies possivelmente mais frequentes de MAC, *M. gordonae*, *M. peregrinum* e *M. chelonae* (Amorim *et al.*, 2010; Dabó *et al.*, 2015). No entanto, existem poucos estudos epidemiológicos e consequentemente não se pode garantir que estas sejam as espécies com maior prevalência a nível nacional.

A crescente aquisição de tartarugas e o aumento de casos reportados de micobacteriose em humanos gera um crucial problema de saúde pública, visto que os quelónios são uma potencial fonte de transmissão. Tudo isto enfatiza o caráter fundamental da sensibilização de toda a comunidade médica, incluindo os médicos veterinários acerca dos seus riscos, assim como, a importância da investigação não só teórica mas também experimental acerca deste tema.

Capítulo V – Bibliografía

- Acierno, M. J., Mitchell, M. A., Roundtree, M. K., & Zachariah, T. T. (2006). Effects of ultraviolet radiation on 25-hydroxyvitamin D₃ synthesis in red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *American Journal of Veterinary Research*, 67(12), 2046–2049.
- Ahmed, I., Hasan, R., & Shakoor, S. (2019). Susceptibility Testing of Nontuberculous Mycobacteria. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 61–84). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00003-6>
- Amir, J. (2010). Non-Tuberculous Mycobacterial Lymphadenitis in Children: Diagnosis and Management. *The Israel Medical Association Journal*, 12(January), 49–52.
- Amorim, A. N. I. O., Macedo, R., Lopes, A., Rodrigues, I., & Pereira, E. (2010). Non-tuberculous mycobacteria in HIV-negative patients with pulmonary disease in Lisbon, Portugal. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 42(March), 626–628. <https://doi.org/10.3109/00365541003754485>
- Antunes, A., Viveiros, F., Carvalho, A., & Duarte, R. (2012). Micobacterioses Não-Tuberculosas - Das Manifestações Clínicas ao Tratamento. *Arquivos de Medicina*, 26(1), 25–30.
- Arena, S. M., Palou, D., Haas, P. De, Janssen, R., Hoeve, M. A., Verhard, E. M., ... Dissel, J. T. van. (2004). Pneumonia caused by *Mycobacterium kansasii* in a series of patients with out recognised immune defect. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 10(8), 738–748. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.00898.x>
- Bernal, L. A., Agudelo, A. N., & Martínez, G. R. (2008). Identificación de *Mycobacterium* sp., en una población de tortugas morrocoy (*Geochelone carbonaria*) en cautiverio y en su entorno, en un zoológico en la Sabana de Bogotá. *Revista de Medicina Veterinaria*, 15, 21–38.
- Bosch, S., Tauxe, R. V., & Behravesh, C. B. (2016). Turtle-Associated Salmonellosis, United States, 2006–2014. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), 1149–1155.
- Bouricha, M., Castan, B., Duchene-parisi, E., & Drancourt, M. (2014). *Mycobacterium marinum* infection following contact with reptiles: vivarium granuloma. *International Journal of Infectious Diseases*, 21, 17–18. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.11.020>
- Brames, H. (2007). Reptile lighting is a process not a bulb. *Exotic DVM*, 9(3), 29–36.
- Brock, J. A., Nakamura, R. M., Miyahara, A. Y., & Chang, E. M. L. (1976). Tuberculosis in Pacific Green Sea Turtles, *Chelonia mydas*. *Transactions of the American Fisheries Society*, 105(4), 564–566. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1976\)105<564](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1976)105<564)
- Brown-elliott, B. A., & Wallace, R. J. (2002). Clinical and Taxonomic Status of Pathogenic Nonpigmented or Late-Pigmenting Rapidly Growing Mycobacteria. *Clinical Microbiology*

Reviews, 15(4), 716–746. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.4.716>

- Dabó, H., Santos, V., Marinho, A., Ramos, A., Carvalho, T., Ribeiro, M., & Amorim, A. (2015). Nontuberculous mycobacteria in respiratory specimens: clinical significance at a tertiary care hospital in the north of Portugal. *Jornal Brasileiro de Pneumologia Pneumologia*, 41(3), 292–294.
- Donnelly, K., Waltzek, T. B., Jr, J. F. X. W., Stacy, N. I., Chadam, M., & Stacy, B. A. (2016). Mycobacterium haemophilum infection in a juvenile leatherback sea turtle (*Dermochelys coriacea*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28(6), 718–721. <https://doi.org/10.1177/1040638716661746>
- Ebani, V. V. (2017). Domestic reptiles as source of zoonotic bacteria: a mini review. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(8), 723–728. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.020>
- Ebani, V. V., & Fratini, F. (2005). Bacterial Zoonoses Among Domestic Reptiles. *Annali Della Facoltà Di Medicina Veterinaria*, 58, 85–91.
- Ebani, V. V., Fratini, F., Bertelloni, F., Cerri, D., & Tortoli, E. (2012). Isolation and identification of mycobacteria from captive reptiles. *Research in Veterinary Science*, 93, 1136–1138. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2012.05.006>
- Farnia, P., Farnia, P., & Ghanavi, J. (2019). *Epidemiological Distribution of Nontuberculous Mycobacteria Using Geographical Information System. Nontuberculous Mycobacteria (NTM)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00010-3>
- Grant, R. A., Montrose, V. T., & Wills, A. P. (2017). ExNOTic : Should We Be Keeping Exotic Pets ? *Animals*, 7(47), 1–11. <https://doi.org/10.3390/ani7060047>
- Greer, L. L., Strandberg, J. D., & Whitaker, B. R. (2003). Mycobacterium chelonae Osteoarthritis in a Kemp ' s Ridley Sea Turtle (*Lepidochelys kempii*). *Journal of Wildlife Diseases*, 39(3), 736–741.
- Hsieh, C. Y., Chang, T. C., Shen, Y. L., Chang, C. D., Tu, C., Tung, M. C., ... Tsai, S. S. (2006). Pathological and PCR detection of mycobacteriosis in pond-cultured Chinese soft shell turtles , *Trionyx sinensis*. *Aquaculture*, 261, 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.07.005>
- Johnson, J. H. (2004). Husbandry and Medicine of Aquatic Reptiles. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, 13(4), 223–228. <https://doi.org/10.1053/j.saep.2004.04.008>
- Karesh, W. B., Cook, R. A., Bennett, E. L., & Newcomb, J. (2005). Wildlife Trade and Global Disease Emergence. *Emerging Infectious Diseases* •, 11(7), 1000–1002.
- Larsson, L., Bennet, R., Eriksson, M., Jonsson, B., & Ridell, M. (2019). Nontuberculous Mycobacterial Diseases in Humans. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 101–119). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00005-X>
- Manteca, X., Mainau, E., & Temple, D. (2012). What is animal welfare? *The Farm Animal Welfare Fact Sheet*, 1(JUNE).

- Marinho, A., Fernandes, G., Carvalho, T., Pinheiro, D., & Gomes, I. (2008). Nontuberculous mycobacteria in non-AIDS patients. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, *XIV*(3), 323–337.
- Marras, T. K., & Daley, C. L. (2002). Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Clinics in Chest Medicine*, *23*, 553–567.
- Mehrian, P., Farnia, P., Ghanavi, J., Jamaati, H., Tabarsi, P., & Velayati, A. A. (2019). Clinical Presentation of Nontuberculous Mycobacteria Using Radiological and CT Scan Imaging. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 133–154). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00007-3>
- Millar, M. J., Hons, M., Bulliard, C., Balachandran, C., & Maloof, A. J. (2007). Mycobacterium hemophilum Infection Presenting as Filamentary Keratopathy in an Immunocompromised Adult. *Cornea*, *26*(6), 764–766.
- Mitchell, M. A. (2011). Zoonotic Diseases Associated with Reptiles and Amphibians: An Update. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, *14*, 439–456. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.05.005>
- Mitchell, M. A. (2012). Mycobacterial Infections in Reptiles. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, *15*, 101–111. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.10.002>
- Muro, J., Canturri, A., Velarde, R., Martínez-silvestre, A., Pastor, J., Lavín, S., & Marco, I. (2020). Atypical systemic mycobacteriosis in Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *Journal of Exotic Pet Medicine*, *32*, 8–12. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2019.11.004>
- Murray, M., Waliszewski, N. T., & Garner, M. (2009). Sepsis and Disseminated Intravascular Coagulation in an Eastern Spiny Softshell Turtle (*Apalone spinifera spinifera*) with Acute. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, *40*(3), 572–575.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2016). *Medical Microbiology* (8th ed.). Philadelphia: Elsevier.
- Nardini, G., Florio, D., Girolamo, N. Di, & Gustinelli, A. (2014). Disseminated Mycobacteriosis in a stranded loggerhead sea turtle (*Caretta Caretta*). *Journal Of Zoo and Wildlife Medicine*, *45*(2), 358–361. <https://doi.org/10.1638/2013-0252R1.1>
- Noyes, H., Bronson, E., Deem, S. L., Sanchez, C., & Murray, S. (2007). Systemic Mycobacterium terrae Infection in an Eastern Box Turtle , *Terrapene Carolina Carolina*. *Journal of Herpetological Medicine and Surgery*, *17*(3), 100–103.
- Oliveira, A. S. de. (2015). *O Complexo Mycobacterium avium – caracterização e patogenicidade*. Universidade Fernando Pessoa.
- Orós, J., Acosta, B., Gaskin, J. M., Déniz, S., & Jensen, H. E. (2003). Mycobacterium kansasii infection in a Chinese soft shell turtle (*Pelodiscus sinensis*). *The Veterinary Record*, *152*, 474–476. <https://doi.org/10.1136/vr.152.15.474>

- Pasmans, F., Blahak, S., Martel, A., & Pantchev, N. (2008). Introducing reptiles into a captive collection: The role of the veterinarian. *The Veterinary Journal*, *175*, 53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tvj.2006.12.009>
- Pasmans, F., Bogaerts, S., Braeckman, J., Cunningham, A. A., Hellebuyck, T., Griffiths, R. A., ... Martel, A. (2017). Future of keeping pet reptiles and amphibians : towards integrating animal welfare , human health and environmental sustainability. *VetRecord*, (October), 1–8. <https://doi.org/10.1136/vr.104296>
- Pinitpuwadol, W., Sarunket, S., Boonsopon, S., Tesavibul, N., & Choopong, P. (2018). Late-onset postoperative Mycobacterium haemophilum endophthalmitis masquerading as inflammatory uveitis : a case report. *BMC Infectious Diseases*, 1–5.
- Ramos, J. A. D. S. (2010). *Transporte de brometo de etídio através da parede celular de Mycobacterium smegmatis: Desenvolvimento e aplicação de metodologias de quantificação do transporte e correlação com a resistência aos antibióticos*. Universidade Nova de Lisboa.
- Rastogi, N., Legrand, E., & Sola, C. (2001). The mycobacteria : an introduction to nomenclature and pathogenesis. *Revue Scientifique et Technique / Office International Des Épizooties.*, *20*(1), 21–54. <https://doi.org/10.20506/rst.20.1.1265>
- Reavill, D. R., & Schmidt, R. E. (2012). Mycobacterial Lesions in Fish, Amphibians, Reptiles, Rodents, Lagomorphs, and Ferrets with Reference to Animal Models. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*, *15*(1), 25–40. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2011.10.001>
- Rhodin, A. G. J., & Anver, M. R. (1977). Mycobacteriosis in turtles: cutaneous and hepatosplenic involvement in a Phrynops hilari. *Wildlife Disease Association*, *13*(2), 180–183.
- Robinson, J. E., John, F. A. V. S., Griffiths, R. A., & Roberts, D. L. (2015). Captive Reptile Mortality Rates in the Home and Implications for the Wildlife Trade. *PLOS ONE*, *10*(11), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141460>
- Rojas-Espinosa, O., Quesada-Pascual, F., Estrada-Parra, S., & Ramirez-Almaraz, J. A. (1985). An attempt to infect turtles (Kinosternon leucostomum) with Mycobacterium leprae and M. lepraemurium. *Developmental and Comparative Immunology*, *9*, 147–150.
- Sadikot, R. T. (2019). Nontuberculous Mycobacterial Lung Disease. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 121–132). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00006-1>
- Sakaguchi, K., Lima, H., Hirayama, K., Okamoto, M., Matsuda, K., Miyasho, T., ... Taniyama, H. (2011). Mycobacterium ulcerans Infection in an Indian Flap-Shelled Turtle (Lissemys punctata punctata). *Journal of Veterinary Medical Science*, *73*(9), 1217–1220.
- Santos, R., Oliveira, F., Fernandes, J., Gonçalves, S., Macieira, F., & Cadete, M. (2005). Detection and identification of mycobacteria in the Lisbon water distribution system. *Water Science & Technology*, *52*(8), 177–180.

- Sindhvananda, J., & Kullavanijaya, P. (2014). Nontuberculous Mycobacterial Skin Infection: Cases Report and Problems in Diagnosis and Treatment. *Journal of Health Science*, 23(6), 1115–1125.
- Sinha, P., Gupta, A., Prakash, P., Anupurba, S., Tripathi, R., & Srivastava, G. N. (2016). Differentiation of Mycobacterium tuberculosis complex from non-tubercular mycobacteria by nested multiplex PCR targeting IS6110 , MTP40 and 32kD alpha antigen encoding gene fragments. *BMC Infectious Diseases*, 16(123), 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1450-1>
- Soldati, G., Lu, Z., Vaughan, L., Polkinghorne, A., Zimmermann, D., Huder, J., & Pospischil, A. (2004). Detection of Mycobacteria and Chlamydiae in Granulomatous Inflammation of Reptiles : A Retrospective Study. *Veterinary Pathology*, 41(4), 388–397.
- Steedman, C., Arena, P. C., & Warwick, C. (2012). *Amphibian and reptile pet markets in the EU: An investigation and assessment*.
- Tebruegge, M., Pantazidou, A., Macgregor, D., Gonis, G., Leslie, D., Sedda, L., ... Curtis, N. (2016). Nontuberculous Mycobacterial Disease in Children – Epidemiology , Diagnosis & Management at a Tertiary Center. *PLOS ONE*, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147513>
- Tortoli, E. (2009). Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(10), 906–910. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.03014.x>
- Tortoli, Enrico. (2019). The Taxonomy of the Genus Mycobacterium. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 1–10). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00001-2>
- Tseng, F. S. (2020). *Specialized Equipment for Wildlife Care*. (S. M. Hernandez, Ed.), *Medical Management of Wildlife Species: A Guide for Practitioners* (1^a). Massachusetts: John Wiley & Sons, Inc.
- UCDAVIS. (2015). Care and Use of Turtles & Tortoises. *UCDAVIS Safety Services*, pp. 1–2.
- Varma-basil, M., & Bose, M. (2019). Mapping the Footprints of Nontuberculous Mycobacteria : A Diagnostic Dilemma. In *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)* (pp. 155–176). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00008-5>
- Velayati, A. A., Farnia, P., & Saif, S. (2019). *Identification of Nontuberculous Mycobacterium : Conventional Versus Rapid Molecular Tests*. *Nontuberculous Mycobacteria (NTM)*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814692-7.00002-4>
- Walsh, F. (2009). Human-Animal Bonds I: The Relational Significance of Companion Animals. *Family Process*, 48(4), 462–480. <https://doi.org/10.1111/j.1545-5300.2009.01296.x>
- Wappel, S. M., & Schulte, M. S. (2004). Turtle care and husbandry. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice Clin Exotic Animal*, 7, 447–472. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2004.03.002>
- Warwick, C., Jessop, M., Arena, P., Pliny, A., Nicholas, E., & Lambiris, A. (2017). Future of keeping pet reptiles and amphibians : animal welfare and public health perspective. *Veterinary Record*,

181, 454–455. <https://doi.org/10.1136/vr.j4640>

Warwick, Clifford, Arena, P. C., & Steedman, C. (2013). Health implications associated with exposure to farmed and wild sea turtles. *Journal Of The Royal Society of Medicine Short Reports*, 4, 1–7.

Webster, A. J. F. (2001). Farm Animal Welfare: the Five Freedoms and the Free Market. *The Veterinary Journal*, 161(3), 229–237. <https://doi.org/10.1053/tvj.2000.0563>

Zeder, M. A. (2015). Core questions in domestication research. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(11), 3191–3198. <https://doi.org/10.1073/pnas.1501711112>

Zellera, M. van, Campainhab, S., & Duarte, R. (2013). Micobactérias não tuberculosas - apresentação , diagnóstico e resposta ao tratamento. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 19(1), 49–50.

Zuercher, B., Waridel, F., Monnier, P., & Cherpillod, J. (2011). International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology A case of dacryocystitis due to *M. haemophilum*. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology Extra*, 6(4), 261–264. <https://doi.org/10.1016/j.pedex.2010.11.009>