

## **RECOMENDAÇÕES PARA DIAGNÓSTICO, TRATAMENTO E MANEJO DE TUBERCULOSE (*Mycobacterium tuberculosis*) EM ELEFANTES SOB CUIDADOS HUMANOS**

**Preparado por força-tarefa de partes interessadas em Prioridades de Manejo e Pesquisa de Tuberculose em Elefantes**

### **Sumário Executivo**

Tanto os elefantes africanos como os asiáticos são suscetíveis à infecção por organismos do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb). Desde 1996, o *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) emergiu como uma doença primariamente em elefantes asiáticos (*Elephas maximus*). Elefantes asiáticos já viviam próximos a humanos em países asiáticos por milhares de anos; elefantes têm sido animais de trabalho, assim como ícones espirituais e culturais. Esta estreita parceria é a provável responsável pela exposição dos elefantes asiáticos a uma doença a qual os humanos são os reservatórios primários. Relatos incidentais de doenças semelhantes à Mtb em elefantes asiáticos datam de milhares de anos atrás (Chalke 1962). Entretanto, a confirmação de Mtb em elefantes ocorreu apenas recentemente e é resultado da aplicação de diagnósticos e medicina veterinária modernos. Uma década e meia de rotina de testes e monitoramento nos Estados Unidos nos ensinou muito sobre Mtb em elefantes. Entretanto, nosso conhecimento sobre sua epidemiologia e patogenicidade em elefantes ainda está em evolução (Feldman 2013).

Em geral, Mtb é transmitida através de contato próximo e prolongado com uma pessoa ou animal que esteja disseminando o organismo. Sendo assim, a transmissão de Mtb de elefantes para o homem é, provavelmente, uma questão de saúde ocupacional ao invés de uma questão de saúde pública. Estudos de prevalência entre 1997 e 2011 mostraram um valor pontual de 5,1% na população cativa viva de elefantes asiáticos nos EUA. Neste mesmo período, a prevalência pontual de Mtb em elefantes africanos cativos nos EUA era 0% (Feldman 2013). Embora os elefantes africanos não sejam imunes à infecção pelo complexo Mtb, sua ocorrência é muito rara. Além disso, a maioria dos elefantes infectados podem não se apresentar clinicamente afetados até que a doença esteja bem avançada e seu diagnóstico ocorre através de lavados de tromba de rotina ou à necropsia. Experiências clínicas com infecções Mtb em elefantes asiáticos têm mostrado que as manifestações da doença variam amplamente desde uma doença séria, mesmo fatal, a infecção subclínica.

Há muitas ferramentas disponíveis para diagnóstico e triagem para o auxílio para confirmação de Mtb em elefantes asiáticos, mas confirmar o diagnóstico de doença clínica genuína permanece desafiador. Todos os métodos têm seu valor e devem ser utilizados quando apropriado. Além disso, novos testes em desenvolvimento necessitarão de validação. Dos métodos atualmente disponíveis, o melhor e mais específico para a identificação de animais infectados é a cultura de amostras de lavado de tromba (LT) rotineiras, considerado o padrão ouro de diagnóstico. A sensibilidade do LT pode variar, mas os fatores envolvidos incluem estágio da doença, qualidade da amostra, assim como manipulação da mesma e são descritos no apêndice 3. O lavado de tromba (LT) é, no elefante, o equivalente a uma amostra de esputo humano. Testes sorológicos, que são úteis para triagem, identificam animais que podem ter sido expostos mas não infectados ou animais que podem estar infectados mas não disseminando. Os testes sorológicos disponíveis atualmente não foram totalmente validados e não devem ser utilizados como teste diagnóstico único. Entretanto, resultados de testes sorológicos devem ser considerados em conjunto com todo o histórico médico do elefante e pode levar o clínico responsável a aumentar a vigilância diagnóstica. As recomendações apresentadas aqui não amparam a imposição de isolamento animal, tratamento ou restrições de transporte baseadas apenas em resultados de testes sorológicos. Em vez disso, elas apoiam

fortemente a experiência profissional do clínico responsável na determinação de qualquer regime de testes, manejo e tratamento.

Pesquisas a respeito da epidemiologia de Mtb em elefantes estão em andamento e nosso conhecimento a respeito dela melhora a cada novo relato. Todavia, são necessários ainda muitos anos de estudo para o completo entendimento da Mtb em elefantes. Entretanto, um aspecto consistente da doença já é sabido: o risco de transmissão de Mtb entre elefantes ou como zoonose parece ocorrer através de contato próximo e prolongado com um animal infectado que esteja disseminando o organismo. Portanto, uma infecção por Mtb em elefantes deve ser tratada pela instituição assim que possível. Se bem manejada e tratada, infecção por Mtb em um elefante não apresenta ameaça para seus tratadores, público ou outros animais.

Este documento é um esforço de muitos anos da Elephant Care Stakeholders (de agora em diante, “partes interessadas”) composta de veterinários, tratadores de elefantes, especialistas em saúde pública, epidemiologistas, farmacologistas, médicos e outros profissionais trabalhando com elefantes em zoológicos, circos e instituições privadas. Estes esforços iniciaram-se após recomendação do APHIS/Cuidados Animais do Departamento de Agricultura dos EUA (USDA), no intuito de apresentar mais transparência e envolvimento das partes interessadas no processo de desenvolvimento de diretrizes ao lidar com tuberculose em elefantes que fossem úteis, consistentes e fáceis de se seguir. As partes interessadas oferecem este “**Recomendações para Diagnóstico, Manejo e Tratamento de Tuberculose em Elefantes**” com o intuito de que este seja um guia útil para veterinários, tratadores de elefantes e agentes de saúde pública lidando com elefantes e que sirva como uma fonte de informações precisas para estes grupos e público em geral. A intenção é que estas recomendações sejam um documento vivo, sendo atualizada regularmente, à medida que ciência e conhecimento da Mtb em elefantes avance através de um bom manejo, vigilância médica e cooperação científica. As partes interessadas continuarão trabalhando junto ao USDA, veterinários estaduais, veterinários de saúde pública estaduais e outros agentes para identificar prioridades de pesquisa, aprender mais sobre riscos potenciais e vias de transmissão da Mtb para refinar ainda mais estas recomendações para diagnóstico, manejo e tratamento de tuberculose em elefantes.

**Agradecimentos:** A Elephant Care Stakeholders Task Force gostaria de agradecer as seguintes pessoas e organizações pelo seu apoio

Chester Gipson, DVM, USDA Animal Care  
American Association of Zoo Veterinarians, AAZV  
International Elephant Foundation, IEF  
Feld Entertainment, Inc.  
Elephant Managers Association, EMA

Recomendações para o Diagnóstico, Manejo e Tratamento de Tuberculose em Elefantes é um esforço colaborativo de muitos anos.

**Editores:** Kay Backues, DVM, DACZM and Ellen Wiedner, VMD, DACVIMS

**Colaboradores da edição 2015 em ordem alfabética (sobrenome):** Noha Abou-Madi, DVM, DACZM, Tom Albert, Doug Armstrong, DVM, Kay Backues, DVM, DACZM, Sharon Deem, DVM, DACZM, Mitch Finnegan, DVM, Thomas Hildebrandt, Dr med vet, Darryl Hoffman, Ramiro Isaza, DVM, MPH, DACZM, Kari Johnson, Jaime Landolfi, DVM, PhD, R Scott Larsen, DVM, DACZM, Bob Lee, Nancy Lung, DVM, Michael McClure, Dave Miller, DVM, DACZM, Julia Murphy, DVM, MPH Deborah Olson, Luis Padilla, DVM, DACZM, Heidi Riddle, Suelee Robbe-Austerman, DVM, Dennis Schmitt, DVM, PhD, DACT, Ellen Wiedner, VMD, DACVIM, Mark Wilson, DVM.

## Referência Rápida e Guia de Conteúdo

Sumário Executivo	pág. 1-2
Agradecimentos	pág. 2
Referência Rápida e Guia de Conteúdo	pág. 3
Informações Gerais sobre Elefantes	pág. 4-5
Perguntas Frequentes	pág. 5-7
Perguntas Frequentes sobre Legislação	pág. 7-8
Abordagem Diagnóstica	pág. 9-10
Tabela de testes diretos para Mtb	pág. 11
Tabela de testes indiretos para Mtb	pág. 12
Explicações sobre Exigências de Testes e Categorias de Elefantes	pág. 13
Tabela de Categorias de Risco de Elefantes	pág. 14
Considerações para o Elefante com Lavado de Tromba Positivo	pág. 15-20
Considerações e Objetivos do Tratamento	pág. 16
Protocolo de Tratamento Recomendado	pág. 17-20
Tabela de Cronogramas de Tratamento	pág. 18
Tabela de Doses de Antibióticos Anti-Micobactérias	pág. 19
Tabela de Vias de Administração	pág. 19
Protocolos de Monitoramento Durante o Tratamento	pág. 21
Mensuração de Nível Sanguíneo de Drogas	pág. 20-21
Considerações sobre Manejo dos Animais	pág. 21-22
Transmissão do <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	pág. 23
Considerações sobre Saúde Ocupacional X Saúde Pública	pág. 24
Recomendações de Saúde Ocupacional	pág. 25
Fontes de Informações sobre Saúde e Segurança Ocupacionais	pág. 25-26
Apêndices	
Apêndice 1: Referências	pág. 27-29
Apêndice 2: Definições Epidemiológicas	pág. 30-31
Apêndice 3: Técnica de Lavado de Tromba	pág. 32-34
Apêndice 4: Laboratórios para cultura de Mtb	pág. 35-36
Apêndice 5: Carta de comentários da NASPHV para o USDA	pág. 37-40
Apêndice 6: Exemplo de certificado de inspeção veterinária (CIV)	pág. 41
Apêndice 7: Participantes das reuniões do Elephant Care Stakeholders 2011-2014	pág. 42-44

## Informações Gerais sobre Elefantes

Embora este documento forneça informações extremamente específicas em uma doença particular de elefantes, os autores entendem que incluir informações gerais sobre elefantes para os leitores interessados seja justificado.

Atualmente, existem duas espécies de elefantes, Elefantes africanos (*Loxodonta africana*) e Elefantes asiáticos (*Elephas maximus*). A maior parte de machos e fêmeas de elefantes africanos têm presas que crescem continuamente durante sua vida. Como regra, apenas os machos apresentam presas longas nos elefantes asiáticos, mas, em alguns países, muitos machos não têm presa alguma. Elefantes asiáticos fêmeas apresentam presas bastante pequenas, que podem inclusive não ser visíveis externamente. Ambas as espécies estão presentes em zoológicos, circos e instituições privadas ao redor do mundo, e ambas as espécies tem uma longa história associada às pessoas. Em geral, elefantes africanos levados para os Estados Unidos foram capturados de vida livre, enquanto os elefantes asiáticos, transportados antes de serem listados como espécie ameaçada pela Convenção de Comércio Internacional de Espécies Ameaçadas de Flora e Fauna Selvagem (CITES) durante os anos 1970, foram adquiridos de campos no Sudeste Asiático onde eles eram cuidados por *mahouts*. Muitos países do sudeste asiático têm alta prevalência de tuberculose humana; portanto, elefantes asiáticos mais velhos podem ter sido expostos à tuberculose humana no início de suas vidas. Os elefantes africanos selvagens importados dificilmente tiveram este contato próximo a humanos e exposição à tuberculose.

Sob cuidados humanos, elefantes podem ser manejados utilizando-se de diferentes técnicas. Estas incluem contato irrestrito, na qual o cuidador e o elefante compartilham o mesmo espaço, e contato restrito, na qual o cuidador e o elefante são separados por barras ou o elefante é contido ou preso por correntes e o cuidador compartilha o mesmo espaço. A maior parte das instituições usam uma combinação de técnicas, dependendo da instituição, da experiência dos tratadores, o treinamento e personalidade do elefante, assim como seu gênero. Isso é relevante para as seções de diagnóstico e tratamento deste documento porque, independentemente do manejo utilizado, a instituição precisa ser capaz de testar e tratar os elefantes sob sua responsabilidade quando necessário.

Ainda há muito a se conhecer sobre elefantes. Seu grande tamanho impede muitas técnicas médicas básicas como auscultação com estetoscópio ou radiografias de tórax e abdômen. Além disso, sua fisiologia é incomum, e extrapolações a partir de bovinos ou equinos a respeito de farmacologia, fisiologia e patofisiologia geralmente são incorretas. Este fato provavelmente representa a história evolutiva antiga dos elefantes, uma espécie com uma linhagem de mais de 50 milhões de anos e com muito poucos parentes próximos não extintos. Questões sobre diagnóstico e tratamento de uma doença bem conhecida geralmente são frustradas por conta de uma completa falta de informação sobre fisiologia básica dos elefantes, incluindo imunologia, funções de órgãos e metabolismo de drogas. A conclusão sobre todas estas incógnitas é que pesquisa básica sobre aspectos gerais de saúde de elefantes é de extrema importância e seria um excelente caminho para novos estudos.

Elefantes africanos são uma espécie ameaçada e os elefantes asiáticos estão listados como espécie em perigo. Sua sobrevivência mesmo para o próximo milênio é considerada incerta. A caça desenfreada por causa do marfim vem dizimando a população selvagem do elefante africano. Tanto elefantes africanos como asiáticos, além de caçados, são mortos durante conflitos com humanos. É de absoluta necessidade que se proporcione aos elefantes em cativeiro os melhores cuidados médicos baseados em ciência, utilizando a medicina baseada em fatos para orientar a

tomada de decisões. O futuro dos elefantes é incerto e grandes esforços de conservação na natureza e em cativeiro serão necessários para ajudar a assegurar que continuemos dividindo o planeta com estas criaturas ímpares e maravilhosas. Este documento foi composto com esta missão em mente.

### Perguntas Frequentes

**O que é tuberculose?** *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) é uma bactéria que causa a maioria dos casos de tuberculose em elefantes. Ela é primariamente uma doença humana que pode causar uma grave doença respiratória e outros tipos de enfermidades nas pessoas.

**Como a tuberculose é transmitida?** A tuberculose não é facilmente transmitida, pois ela requer contato prolongado e próximo com a pessoa ou animal que está eliminando a bactéria. A bactéria é eliminada via aerossóis pela pessoa ou animal infectado. Se estas bactérias forem inaladas, elas podem causar doença na pessoa ou animal. Em pessoas saudáveis, infecção com Mtb geralmente não causa doença, já que o sistema imune da pessoa geralmente elimina ou “isola” as bactérias. Este estado de isolamento das bactérias é considerado uma infecção latente. Além disso, apenas em torno de 5 a 10% das pessoas com infecção latente desenvolverá a doença ativa. A relação entre infecção, latência e doença é desconhecida em elefantes.

**Como eu sei se um elefante tem tuberculose?** O melhor método para confirmar definitivamente que um elefante vivo tem infecção por Mtb é encontrar organismos do Mtb durante a cultura de amostras rotineiras de lavado de tromba (LT), lavado pulmonar, biópsia ou outros fluidos excretados pelo elefante. Outros testes auxiliares, como testes sorológicos, podem ser utilizados para apoiar um diagnóstico, mas não são definitivos. Diagnóstico definitivo num elefante morto só pode ser confirmado através de necropsia do animal, utilizando-se os protocolos recomendados e submetendo amostras a cultura micobacteriana.

**O que é um lavado de tromba?** Um lavado de tromba (LT) representa a amostra de dos tratos respiratórios superior e inferior de um elefante e é o equivalente à amostra de esputo humano. Por causa de sua anatomia, elefantes são incapazes de tossir. Ao invés disso, eles são treinados a soprar forte num recipiente coletor. Uma descrição completa do LT pode ser encontrada no Apêndice 3. A técnica de LT triplo se refere a uma série de três LTs realizados dentro de um período de 7 dias. O procedimento não requer sedação ou stress desnecessário ao animal, nem equipamento especializado ou caro.

**Há algum teste diagnóstico sorológico validado que confirme a infecção por Mtb em elefantes?** Neste momento, testes sorológicos foram validados apenas para certas populações conhecidas de elefantes; elefantes com confirmação de infecção por cultura ou achados necroscópicos ou confirmados como não infectados. Testes sorológicos não podem ser utilizados para confirmar uma infecção por Mtb na população geral de elefantes. Testes sorológicos podem ser utilizados pelo clínico veterinário responsável para decidir se um aumento na vigilância por LT de um indivíduo ou grupo de elefantes é apropriado.

**Há evidências de que fômites podem ser via de transmissão de Mtb entre elefantes ou de elefantes para outros animais?** Até o presente, transmissão por fômites, infecção por Mtb causada após exposição a um objeto inanimado como roupas ou ferramentas para um animal não foi provada como um meio de disseminação de Mtb entre elefantes ou pessoas (Volgenest 2013).

**Com qual frequência um elefante clinicamente saudável deve ser testado para tuberculose?**

Recomenda-se que todo elefante sem exposição prévia ou histórico de doença por Mtb seja testado numa rotina de 3 lavados de tromba durante um período de 7 dias anualmente, (técnica de triplo LT). Um elefante é caracterizado como em nível A de risco se não tem histórico de infecção por Mtb ou exposição a um elefante ou outro animal infectado por Mtb por um período de 5 anos. (Veja a descrição das Categorias de Risco de Elefantes na página 13 e na tabela III na página 14).

**Com qual frequência deve ser realizado o lavado de tromba (LT) num elefante recebendo tratamento para tuberculose?**

A recomendação atual, presente neste documento, para testar um elefante Mtb positivo confirmado é uma cultura de LT única por semana durante os primeiros 2 meses de tratamento, seguido de triplo LT uma vez ao mês durante o período de tratamento. Após o término do tratamento, culturas triplas podem ser realizadas em meses alternados por 2 anos para confirmar o sucesso do tratamento.

**Qual é a distância mínima recomendada para alojar um elefante Mtb positivo de outros elefantes?**

Atualmente, o grau de exposição, distância e tempo necessários para a transmissão de Mtb entre um elefante confirmadamente infectado e outros elefantes é desconhecido. Com o intuito de reduzir as chances de transmissão entre animais, o animal infectado deve ser tratado tão logo quanto a instituição possa fazer planos para tal e, conseqüentemente, a eliminação do organismo no ambiente. Além disso, a instituição deve avaliar protocolos de ventilação, de higiene e saneamento para que se reduza a aerossolização e a contaminação dentro da instituição. A instituição em questão deve determinar caso a caso se um animal infectado deve ser isolado durante todo o período de tratamento, ou isolado temporariamente ou mantido no grupo enquanto o tratamento é ministrado.

**É possível contrair tuberculose ao montar um elefante, visitar um circo ou um recinto de elefante?**

Contato incidental breve, como o que pode ocorrer como parte de um evento onde membros do público em geral são permitidos a montar, alimentar, tocar ou observar de perto um elefante, tem baixa probabilidade de resultar em exposição. Geralmente, Mtb é transmitida devido a contato próximo prolongado com uma pessoa ou animal eliminando o organismo, portanto, a transmissão de Mtb de elefantes para humanos é provavelmente uma preocupação de saúde ocupacional ao invés de saúde pública. Até o momento, não há casos conhecidos de transmissão confirmada de Mtb entre elefantes e humanos que não se encaixem no modelo de contato próximo prolongado com um animal infectado ou contaminação por aerossol (Murphree et al 2011).

**Elefantes estão viajando para o meu estado; que precauções devo tomar para prevenir a transmissão de Mtb para o meu plantel de animais de produção?**

Nenhuma precaução especial é necessária. Para elefantes serem transportados eles necessitam de exames de rotina e serem negativos no método de LT. Não há casos documentados de transmissão de Mtb de elefantes para animais de produção.

## **Perguntas Frequentes sobre Legislação**

Elefantes podem ser transportados entre estados para transferência entre instituições, reprodução e exposições. A questão da Mtb em elefantes gerou grande discussão e confusão. Mal-entendidos são comuns a respeito dos diferentes testes, riscos, se é que eles existem para animais de produção e público em geral, além de como avaliar corretamente um grupo ou indivíduo de elefante chegando a uma região ou estado. A sessão seguinte aborda estas questões.

### **Qual documentação deve acompanhar um elefante ao entrar num estado?**

O(s) elefante(s) devem ser acompanhados por um Certificado de Inspeção Veterinária (CVI) escrito por um veterinário credenciado no USDA Classe II e com data não superior a 30 dias antes da chegada nesse estado. Muitas instituições zoológicas utilizam um formulário fornecido pela AAZV (Apêndice 6). Outras instituições usam um formulário de CVI genérico de animais de produção do estado de origem. Ambos são aceitáveis. Deve constar do CVI nome, idade e gênero de cada elefante do grupo, datas de quaisquer vacinações, se aplicadas, e a data em que a série tripla de lavados traqueais (LT) foi realizada. Para animais na Categoria A uma série tripla de LT deve ser realizada anualmente. Para animais na Categoria B, uma série tripla de LT deve ser realizada trimestralmente a partir do momento em que o (s) elefante(s) foi inserido nesta Categoria. O veterinário responsável pelo preenchimento do certificado sanitário deve listar qual categoria cada elefante no certificado pertence. (Veja a descrição de Categorias de Risco de Elefantes, página 13, e Tabela III, página 14).

Complementando, elefantes acima dos 5 anos de vida devem ser transportados com cópias de, pelo menos, dois anos de resultados de LT. Os laboratórios onde as culturas foram realizadas, o nome do elefante e os resultados finais devem ser listados. Os resultados devem constatar que cada LT foi negativo.

### **Quais as diferenças entre elefantes na Categoria A, Categoria B e Categoria C?**

Elefantes na Categoria A não tiveram exposição a animais com cultura positiva num período de 5 anos. Estes animais são negativos no LT e não apresentam sinais clínicos. São testados pela técnica de triplo LT uma vez ao ano. Elefantes na Categoria B podem ter tido contato com um animal positivo para Mtb nos últimos 5 anos. Estes animais são negativos no LT, mas estão sob vigilância mais intensa ao serem testados com LT trimestralmente ao invés de anualmente. Não há recomendação de restrições de transporte para elefantes na Categoria B, pelo fato destes animais estarem sendo bem triados e monitorados. Animais da Categoria C têm LT positivo (já tiveram organismos da Mtb isolados por cultura micobacteriana a partir de uma amostra de LT) e são considerados infectados. Estes elefantes só podem ser transportados caso necessário para cuidados médicos. (Veja a descrição de Categorias de Risco de Elefantes, página 13, e Tabela III, página 14).

### **E se o elefante é LT negativo, mas é reativo em um teste sorológico (DPP, MAPIA, STAT-PAK ou ELISA?)**

Muitos elefantes se encaixam neste grupo. Se o elefante tem dois anos de culturas de LT triplas anuais, deve ser considerado negativo. Testes sorológicos não são diagnósticos e nunca foram validados em uma população de elefantes com status para Mtb desconhecido e não devem ser usados em questões regulatórias.

**Elefantes estão sendo transportados para uma arena de animais de produção em meu estado, que precauções devem ser tomadas para prevenir a transmissão de Mtb para animais de produção?**

Não são necessárias precauções especiais. Para serem transportador, elefantes precisam ser submetidos rotineiramente a lavados de tromba com resultados negativos de cultura. Não existe caso documentado de transmissão de Mtb de elefantes para animais de produção.

**Há ameaça à saúde pública ao montar ou alimentar um elefante, ou visitar um circo ou recinto de elefantes num zoo?**

Contato incidental breve, o qual alguém pode ter como parte de um evento onde membros do público em geral são permitidos a montar, alimentar ou tocar um elefante, apresentam muito pouco risco de exposição. Geralmente, Mtb é transmitida devido a contato próximo prolongado com uma pessoa ou animal eliminando o organismo, portanto, a transmissão de Mtb de elefantes para humanos é provavelmente uma preocupação de saúde ocupacional ao invés de saúde pública. (Veja Apêndice 5 Carta de comentários da NASPHV para o USDA).

Para assuntos e questões referentes a saúde pública e saúde humana, consulte o veterinário de saúde pública de seu estado.

**Há evidência de que fômites são um meio de transmissão de Mtb entre elefantes ou de elefantes para outros animais?**

Até o presente momento, transmissão via fômites não foi provada ou documentada como meio de disseminação de Mtb entre elefantes ou entre elefantes e pessoas. A rotineira remoção de fezes, urina, substrato e feno e a higienização de recintos e áreas como arena de animais de produção devem ser realizadas entre exposições de animais como questão de higiene básica destes locais. Práticas sanitárias básicas empregadas entre exposições animais são apropriadas para serem usadas após uma exposição envolvendo elefantes.



## **Abordagem diagnóstica**

Monitoramento da Mtb é parte de um programa de medicina preventiva padrão para elefantes. O clínico veterinário deve estabelecer um programa de medicina preventiva através do monitoramento da condição individual de um elefante bem como o status de saúde do grupo. Exames de rotina e testes diagnósticos preventivos permitem estabelecer valores básicos de referência normais para cada animal, a detecção de doenças em estágio inicial e o monitoramento de tratamentos. O veterinário responsável deve avaliar a relevância de cada modalidade de testes e realizar uma avaliação completa para contribuir com a análise de risco de doenças. O veterinário de registro pode, desta forma, planejar testes apropriados, interpretação de dados baseada em ciência e plano de tratamento focado e baseado em evidência em cada situação.

Uma abordagem geral para o diagnóstico de Mtb, similar ao utilizado em qualquer doença, inclui:

1. Obter uma história completa (elefante e grupo)
  - Revisão de anamneses incluindo condição geral e problemas específicos a Mtb
  - O histórico médico individual do animal
  - Espécie em questão (Nota: Nos Estados Unidos, Mtb tem sido encontrada exclusivamente em elefantes asiáticos nos últimos dez anos)
  - História prévia, origem/local dos animais
  - Histórico de viagens e exposição potencial a Mtb em cada local
  - Problemas atuais (incluindo doenças geriátricas)
  - Exame físico (incluindo escore de condição corporal) e peso
  - Histórico médico do grupo
  - História prévia de problemas
  - Treinamento para procedimentos médicos
  - Histórico de resultados de monitoramento de Mtb
  - Resultados necroscópicos de companheiros de grupo
  - Novas aquisições
  - Revisão de práticas de manejo incluindo proximidade/exclusão de outros elefantes, assim como de outras espécies animais
  - Procedimentos de quarentena
  - Monitoramento de Mtb humana da equipe de cuidados animais e mudanças em resultados dos testes
  
2. Determinação da saúde geral do(s) elefante(s)
  - Hemograma completo, esfregaço sanguíneo
  - Bioquímica sérica
  - Urinálise
  - Proteínas de fase aguda/Eletroforese proteica enviados à Universidade de Miami (Isaza et al 2014)
  - Exames coproparasitológicos
  - Coprocultura para patógenos entéricos
  
3. Banco de soro a -80°C para diagnósticos futuros
  
4. Teste específico para Mtb. Veja também Tabelas I e II, abaixo.
  - Testes específicos para Mtb para detecção de organismos micobacterianos

**Testes ante-mortem:**

- Cultura: o padrão ouro é a cultura de fluido de lavado de tromba (LT)  
Outras amostras auxiliares incluem muco expelido, fluido vaginal, tecido de biópsia, fluido de lavado pulmonar/de vias aéreas. Amostras devem ser enviadas a um laboratório apropriado com experiência em cultura de organismos micobacterianos.
- Coloração ácido-rápida: não-específico para Mtb.
- Reação em cadeia de polimerase (PCR): incapaz de diferenciar organismos viáveis de mortos

**Testes post-mortem:**

Cultura de pulmão, linfonodos ou granulomas

Nota: a presença de lesões granulomatosas NÃO é patognomônica para Mtb. Outras espécies do complexo Mtb, micobactérias saprófitas e outros organismos não-tuberculares podem causar granulomas. Entretanto, o achado de abscessos pulmonares, abscessos em linfonodos ou granulomas de qualquer tamanho justificam uma maior suspeita (Lacasse et al 2007)

PCR: veja comentários na sessão de testes ante-mortem

Imunohistoquímica: não realizado de rotina

- Testes indiretos para Mtb detectando resposta imune do hospedeiro

Todos são testes ante-mortem

Sorologia: podem aumentar a suspeita, mas tanto resultados falso positivos como falso negativos podem ocorrer

Ensaio de Resposta Imune (IGRAs): ainda não validados para elefantes

Pesquisa neste campo está sendo realizada (Landolfi et al 2014)

Teste dérmico de tuberculina (PPD): não funciona em elefantes

**Tabela I: Testes Diagnósticos para Mtb: Testes diretos**

Método direto	Prós	Contras	Disponibilidade
Cultura de Lavado de Tromba <sup>a</sup>	Resultados positivos são indicativos de infecção e eliminação no momento da coleta	Falsos negativos devido a anatomia, eliminação intermitente, tamanho e atividade da lesão  Falsos positivos devido a erro do laboratório ou contaminação no local da coleta são possíveis, embora raros  Necessita de treinamento de equipe do elefante	Disponível Laboratório especial necessário
Lavado de Pulmão <sup>b</sup>	Resultados positivos geralmente indicam infecção  Visualização potencial de lesões  Potencial para amostra de qualidade superior comparado ao lavado de tromba devido à contaminação reduzida	Falsos negativos são possíveis  Necessita de treinamento de equipe e experiência veterinária  Falsos positivos devido a erro de laboratório são possíveis, embora infrequentes  Equipamento caro  Sedação e analgesia necessárias	Limitações severas e não realizado de rotina
Cultura de tecidos post-mortem <sup>c</sup>	Resultados positivos indicam infecção	Resultados falsos positivos devido a erro de laboratório possíveis, embora raros  Não fornece resultados ante-mortem	Disponível
PCR	Potencialmente altamente específico  Potencial para amostras de vários tecidos: lavado de tromba, amostra post-mortem  Tempo de resultado mais rápido comparado à cultura	Pode não significar infecção ativa Validação limitada: espectro total da doença não incluído Falsos positivos devido a erro do laboratório são possíveis Necessitam que equipe e elefante sejam treinados para coleta ante-mortem Falsos negativos possíveis Necessita de manuseio e transporte adequado de amostras	Experimental

<sup>a</sup> Isaza & Ketz, 1999<sup>b</sup> Hildebrandt, comunicação pessoal<sup>c</sup> [http://www.aphis.usda.gov/animal\\_welfare/downloads/elephant/Postmortem%20Exam%20Procedures.pdf](http://www.aphis.usda.gov/animal_welfare/downloads/elephant/Postmortem%20Exam%20Procedures.pdf) e[http://c.ymcdn.com/sites/www.aazv.org/resource/resmgr/imported/eleph\\_research\\_and\\_ne\\_cropsy\\_protocol\\_august\\_2012.pdf](http://c.ymcdn.com/sites/www.aazv.org/resource/resmgr/imported/eleph_research_and_ne_cropsy_protocol_august_2012.pdf)

**Tabela II: Testes diagnósticos para Mtb – Testes indiretos**

<b>Método Indireto</b>	<b>Prós</b>	<b>Contras</b>	<b>Exemplo</b>	<b>Disponibilidade</b>
Sorologia	<p>Tempo de resultado potencialmente curto</p> <p>Potencial para monitorar resposta ao tratamento</p> <p>Comparativamente conveniente: alguns testes podem ser realizados no local</p>	<p>Validação limitada: espectro completo da doença não incluído</p> <p>Pode indicar exposição e resposta imune, mas não confirma infecção ou eliminação</p> <p>História de uso como ferramenta diagnóstica ao invés de triagem para questões regulatórias</p> <p>Sensitividade e especificidade documentadas incompletamente; não validada para a população de elefantes em geral</p> <p>Uso regulatório restringiu acesso do clínico e exigiu coleta de sangue supervisionada</p> <p>Resposta imune pode variar consideravelmente</p> <p>Exige treinamento do elefante para colheita de sangue</p>	<p>ELISA 6 antígenos<sup>a,b</sup></p> <p>STAT-PAK<sup>c,d</sup></p> <p>MAPIA<sup>e</sup></p> <p>DPP<sup>e</sup></p>	<p>Não atualmente</p> <p>Não atualmente</p> <p>Não atualmente</p> <p>Disponibilidade limitada</p>
Ensaio de Citocina <sup>f</sup>	<p>Tempo de resultado potencialmente curto</p> <p>Potencialmente específico para resposta celular</p> <p>Potencial para monitorar resposta ao tratamento</p>	<p>Validação limitada. Espectro completo da doença não incluído</p> <p>Necessita de manipulação cuidadosa da amostra, teste dentro de 24h</p> <p>Necessita de elefante treinado para colheita de sangue</p>		Experimental
Gamma interferon	<p>Potencialmente mesmas vantagens da sorologia</p> <p>Baseado em resposta celular</p>	<p>Validação incompleta com o espectro completo da doença</p> <p>Potencialmente há necessidade relacionadas ao tempo de teste</p>		Experimental
BTB (Teste sanguíneo para Tuberculose) <sup>h</sup>	<p>Potencialmente as mesmas vantagens da sorologia</p>	<p>Sem validação com o espectro completo da doença</p>	<p>Obs.: desenvolvido para cervídeos</p>	Não atualmente
Teste intradérmico de tuberculina <sup>b</sup>		<p>Necessita de reavaliação 72 horas depois</p> <p>Fraca especificidade e sensibilidade em elefantes</p>		Disponível, mas não recomendado

<sup>a</sup>Larsen et al 2000, <sup>b</sup>Mikota et al 2001, <sup>c</sup>Bontekoning et al 2009, <sup>d</sup>Verma-Kumar et al 2012, <sup>e</sup>Greenwald et al 2009, <sup>f</sup>Landolfi et al 2014, <sup>g</sup>Angkawanish et al 2013, Griffin & Buchan 1994

### **Exigências de Testes Recomendadas e Categorias de Risco para Elefantes** **(Ver também Tabela III abaixo)**

Exigências de testes para elefantes variam de acordo com qual grupo de risco eles pertencem. Elefantes são classificados em um de três grupos dependendo do risco de serem positivos para Mtb. Testes variam de acordo com estes grupos

**Categoria A:** Estes elefantes são animais de baixo risco que não tiveram exposição conhecida a um animal com cultura positiva para Mtb nos últimos cinco anos. Eles também são consistentemente negativos à técnica de lavado de tromba (LT) tripla anual. Estes animais são testados uma vez ao ano através da técnica de lavado de tromba (LT) tripla. Não há restrições recomendadas para seu transporte entre estados ou instituições.

**Categoria B:** Estes elefantes têm um risco moderado de tornarem-se positivos para Mtb. Elefantes da Categoria B tiveram contato com um elefante com cultura positiva para Mtb nos últimos 5 anos, mas são consistentemente negativos à técnica de LT tripla anual. Estes animais necessitam de monitoramento ampliado. Portanto, a técnica de LT tripla deve ser realizada a cada três meses por três anos. Se todas as 12 culturas permanecerem negativas por este período de três anos, estes elefantes retornam ao status de Categoria A, sendo testados anualmente pela técnica de LT tripla. Não há restrições recomendadas para o transporte destes animais entre estados ou instituições.

**Categoria C:** Estes elefantes são positivos por culturas de LT ou outros fluidos corpóreos. Estes animais não podem viajar exceto por razões especificamente médicas. Eles são considerados infectados por Mtb. Uma vez que o LT positivo é relatado e o tratamento iniciado, o elefante deve ser submetido a LT semanais por dois meses para que se determine o tempo em que a eliminação do agente cesse. Se a eliminação não cessar neste período de 8 semanas, deve ser realizada nova cultura e a sensibilidade checada novamente. Nível sanguíneo das drogas deve ser checado novamente também, para que se certifique que níveis apropriados estão sendo atingidos. Se a instituição estiver enfrentando dificuldades em medicar o animal, e falta de conformidade for a causa da eliminação persistente, será necessária reavaliação de técnicas de manejo e medicação.

Se a eliminação cessa após as primeiras 8 semanas de tratamento, então, pela duração do tratamento, a técnica de série tripla de LT deve ser realizada a cada dois meses. Ao final do tratamento, o animal deve ser testado pela técnica de série tripla de LT a cada três meses por 18 meses. Nenhuma viagem é permitida neste período, a não ser por motivos médicos. Se todas as culturas de LT nestes 18 meses forem negativas, o elefante reverte para a Categoria B e deve ser testado pela técnica de LT tripla a cada três meses por três anos. Não há restrições de transporte para elefantes da Categoria B. Se o elefante permanecer negativo por estes três anos, ele novamente se torna um elefante da Categoria A, porém o veterinário pode decidir continuar com vigilância por LT em frequência aumentada por tempo indeterminado.

**Tabela III. Categorias de Risco de Elefantes**

Categorias de risco são determinadas pelo histórico de exposição dos animais, histórico de tratamento e resultados de cultura de lavados de tromba. Testes sorológicos são testes auxiliares apropriados para uso clínico guiando o veterinário responsável, mas não são apropriados do ponto de vista de legislação. Portanto, não são utilizados aqui na determinação de categorias de risco.

<b>Categoria de risco</b>	<b>Exposição à TE</b>	<b>Sinais Clínicos</b>	<b>Teste</b>	<b>Frequência de testes</b>	<b>Mudança de status</b>
<b>Baixo risco</b> <i>(Categoria A)</i>	Sem exposição conhecida nos últimos 5 anos  Cultura negativa para Mtb através da técnica de triplo LT	Nenhum	CLT	Três vezes durante uma semana, uma vez ao ano	Elefante permanece na Categoria A se CLT ficar negativo nenhum elefante do grupo tornar-se positivo  Elefante torna-se Categoria B se outro elefante no grupo se tornar positivo através de CLT
<b>Risco moderado</b> <i>(Categoria B)</i>	Contato com animal TB positivo nos últimos 5 anos  Cultura negativa para Mtb através da técnica de triplo LT	Nenhum	CLT  Outros testes diagnósticos auxiliares podem incluir sorologia para tuberculose hemograma/bioquímico e outros testes determinado pelo veterinário responsável	Três vezes dentro de uma semana, realizado 4 vezes ao ano	Elefante retorna à Categoria A se negativo por cultura durante 3 anos  Elefantes se tornam Categoria C se cultura se torna positiva a qualquer momento
<b>Alto risco</b> <i>(Categoria C)</i>	Positivo em CLT	N/D	CLT	Único CLT semanal por 2 meses. Depois, CLT mensal durante tratamento, depois a cada três meses por dois anos após o tratamento	Se CLT permanece negativa por 2 anos após o tratamento, elefante se torna Categoria B

\*CLT = Cultura de lavado de tromba

### **Considerações uma vez que o elefante obtenha cultura positiva em um Lavado de Tromba (LT).**

Se um elefante testa positivo para MTB via LT, o laboratório de testes diagnósticos irá contatar o veterinário responsável. Porque um elefante com LT positivo é considerado infectado pelo Mtb, algumas ações são necessárias, embora requisitos de notificação variem em cada estado:

1. Notificações do pessoal de regulação
  - Veterinário estadual
  - Veterinário estadual para saúde pública
  - Organização local de saúde pública
  - O veterinário do USDA indicado para a instituição
2. Notificação interna institucional
  - Administração
  - Equipe trabalhando com o elefante
  - Agentes estaduais de saúde pública que farão recomendações e coordenar testes nos funcionários
3. Confirmar resultado positivo. As notificações listadas acima devem ser realizadas antes mesmo da obtenção desta confirmação. Se amostras de lavado de tromba (LT) estão estocadas em banco, uma destas amostras pode ser enviada para repetição de cultura. Uma nova amostra de LT pode ser obtida.
4. Sensibilidade antimicrobiana da cultura positiva deve ser solicitada para o laboratório diagnóstico.
5. *Spoligotyping* ou o sequenciamento genético completo da cultura deve ser solicitada ao laboratório. Se o laboratório for incapaz de realizar nenhuma das duas técnicas, a cultura deve ser enviada para o NVSL, Ames, Iowa para identificação genética. O contato para NVSL está no Apêndice 4.
6. Teste dos contatantes. Todos os elefantes do grupo do animal positivo são movidos para a Categoria B. Categoria B requer realização de triplo LT trimestralmente em todos os animais do grupo a partir deste momento.
7. Revisão do histórico de transporte do animal positivo e notificação das outras instituições, como apropriado.
8. Orientação dos funcionários a respeito do uso de Equipamento de Proteção Individual (EPI) de acordo com as recomendações dos agentes de saúde pública.
9. Discussão interna na instituição sobre o manejo do elefante infectado a respeito de quarentena, limpeza e manuseio.
10. Aquisição de drogas antituberculose. Porque encomendar drogas em quantidade adequada demanda tempo, mesmo que o resultado da sensibilidade não esteja disponível imediatamente, a instituição deve investigar fornecedores e custos

11. Triagem da saúde do elefante infectado antes do início do tratamento. Armazenamento de amostras de soro para potenciais estudos futuros devem ser consideradas; veja Abordagem diagnóstica a partir da página 9.

### **Considerações sobre o tratamento de elefantes com Mtb.**

A questão primária em se determinar se a terapia antituberculosa é apropriada para elefantes é que atualmente não há maneira de se determinar sua eficácia ante-mortem. Em humanos, melhora clínica pode ser confirmada e monitorada por radiografias torácicas. Em equinos, melhora em pneumonias granulomatosas podem ser monitoradas por exames ultrassonográficos sequenciais dos pulmões. Nenhuma destas técnicas são opções viáveis em elefantes. Primeiro, elefantes infectados por TB raramente demonstram externamente sinais de doença e podem não apresentar achados laboratoriais anormais até que o quadro seja avançado. Em segundo lugar, eles são muito grandes para quaisquer modalidades atuais de exames de imagem.

Por último, sinais clássicos de Mtb em humanos; tosse crônica e suor noturno não são vistos tipicamente em elefantes. Elefantes são fisicamente incapazes de tossir, apresentam glândulas sudoríparas apenas ao redor dos pés e perda de peso é extremamente rara em elefantes infectados exceto em casos muito avançados da doença.

A partir de uma perspectiva baseada em evidências, três itens podem ser monitorados durante o tratamento de Mtb em elefantes; primeiro, se os animais estão ou não eliminando organismos de Mtb, informação que pode ser obtida apenas através das culturas de LT; segundo, determinação da concentração sérica de medicações antituberculosas que podem ser comparadas com parâmetros clínicos humanos, e, finalmente, identificação de efeitos adversos induzidos pelos medicamentos.

Prevenção da eliminação é o primeiro objetivo do tratamento. Tratamento para que o animal não desenvolva eventos adversos sérios relacionados à terapia antituberculosa seria o segundo. Determinar concentrações séricas apropriadas, doses correspondentes, frequência e duração dos tratamentos ainda permanecem empíricas em elefantes.

Mtb em humanos é tratada tipicamente com um regime de quatro drogas consistindo de isoniazida (INH), rifampin (RIF), pirazinamida (PZA) e etambutol (ETH). Estudos farmacocinéticos em elefantes não avaliaram concentrações sanguíneas necessárias para cura, apenas a quantidade de drogas cuja administração é necessária para atingir concentração sanguínea similar à reportada em humanos. (Maslow et al 2005a; Maslow et al 2005b; Zhu et al 2005; Peloquin et al 2006).

Eventos adversos severos associados à terapia antituberculosa são bem documentados tanto em humanos (Thompson et al 1995; Papastavros et al 2002; Yee et al 2003; Younossian et al 2005; Saukkonen et al 2006) e elefantes, embora os sinais em elefantes são próximos àqueles encontrados em animais de produção, não aos de humanos. (Wiedner & Schmitt 2007; Wilson et al 2010). Estes eventos adversos incluem apatia, cólica, inapetência e fezes negras (Wiedner & Schmitt 2007). Isso sugere que concentrações séricas humanas são ou podem ser tóxicas para elefantes. Reduzir as doses destas drogas enquanto se mantém



concentrações-alvo acima dos parâmetros humanos pode diminuir a incidência de toxicidade sem comprometer a efetividade.

Embora o aumento no nível de enzimas hepáticas seja encontrado frequentemente em elefantes sendo tratados para Mtb, atualmente não é possível monitorar hepatotoxicidade em elefantes como em humanos. Isto ocorre pois as enzimas hepatocelulares (AST, SDH, GGT, LDH, FA) tendem a variar muito em especificidade e não foram avaliadas em elefantes (Boyd 1988). Testes de função hepática, TFHs que são padrão ouro na determinação de hepatotoxicidade, também não foram validados em elefantes. Ácidos biliares, o TFH mais utilizado em Veterinária, não podem ser medidos em elefantes, pois a espécie não produz ácidos biliares, apenas álcoois biliares. Testes de álcoois biliares não estão disponíveis atualmente.

Outra preocupação ao se tratar elefantes para Mtb é determinar a frequência adequada da terapia. Não existem dados disponíveis que demonstrem que um regime de doses funcione melhor que outro em elefantes. A partir da perspectiva da cessão da eliminação, uma frequência mais alta no início do tratamento parece aplicável em elefantes; entretanto, qualquer uma das drogas antituberculosas apresentam efeitos residuais por dias, o que sugere que um esquema intermitente também pode ser utilizado. (Davies & Neumberger 2008).

Humanos são monitorados tipicamente por dois anos após a terapia antituberculosa. Taxa de recorrência (também conhecida por relapso) em humanos utilizando a abordagem de 4 drogas varia de 0 a 27% (Lambert et al 2003). Recorrência é considerada diferente de reinfecção. A diferenciação entre recorrência e reinfecção necessita de técnicas moleculares. Em elefantes, não há estudos publicados indicando taxa de recorrência ou reinfecção. Enquanto alguns pesquisadores têm sugerido o uso de sorologia para monitorar recuperação pós-tratamento, ainda não há validação para esta técnica.

### **Objetivos de uma terapia antituberculosa baseada em evidências em elefantes**

1. Prevenir que o elefante infectado elimine o patógeno
2. Prevenir que o elefante fique doente pelo tratamento
3. Atingir níveis séricos acima dos parâmetros para drogas relevantes
4. Tratar diariamente com as quatro drogas inicialmente, então diminuir para terapia intermitente
5. Tratar por um período adequado
6. Monitorar intensivamente as culturas de LT pelos próximos dois anos. Veja Categoria C acima

### **Protocolo de Tratamento Recomendado**

O tratamento de elefantes com cultura positiva pode ser feito em duas fases: **fase inicial** e **fase de continuação**. O objetivo da fase inicial é diminuir rapidamente a população bacteriana sem criar resistência. Durante esta fase, 3 ou 4 drogas são usadas concomitantemente, sendo uma delas a isoniazida (INH). A isoniazida é responsável pela eliminação rápida de organismos Mtb geralmente em poucos dias após o início do tratamento, cessando a eliminação. Isto torna o animal não-contagioso para animais e humanos ao redor dele. Outras drogas que podem ser usadas neste momento são ETH (etambutol), PZA (Pirazinamida) e RIF (Rifampin). RIF é um esterilizador que atua em lesões cavitárias. ETA e PZA são sinérgicos com outras drogas e importantes na prevenção de falhas no tratamento por resistência. Quinolonas, como levofloxacina são usadas no

tratamento humano caso cepas resistentes a INH e/ou RIF estiverem presentes. Em animais, enrofloxacin tem sido utilizada. A fase inicial requer administração frequente das drogas, 5 tratamentos durante um período de sete dias utilizando 3 ou todas as 4 drogas. Esta fase dura 8 semanas ou 40 doses.

O objetivo da segunda fase do tratamento – a fase de continuação – é a continuidade da eliminação das bactérias. O número de drogas cai para 2 ou 3 concomitantes e a frequência de administração baixa para 3 tratamentos por semana. A fase de continuação dura 64 semanas e consiste de 192 doses.

Alguns elefantes não são capazes de tolerar a alta intensidade da fase inicial e demonstram sinais de toxicidade, incluindo apatia, fezes duras escassas e fétidas, blefarospasmo severo, lacrimejamento e/ou fraqueza. Elefantes com estes sintomas devem ter a terapia suspensa para que se recuperem, depois recolocados em um **regime combinado**, que é usado do início ao fim da terapia. Neste regime, três drogas são utilizadas em menor frequência, mas no dobro da dose usado normalmente. O regime combinado dura 72 semanas e consiste de 216 doses. Em um outro subgrupo de elefantes, as doses dobradas também vão ocasionar sinais de toxicidade. Há poucas recomendações para estas situações, e os autores deste documento recomendam que nestes casos o veterinário da instituição consulte farmacologistas e veterinários experts em elefantes para determinar o melhor seguimento para o caso.

Efeitos adversos, sejam os citados acima ou outros, devem ser reportados ao Centro de Medicina Veterinária (CVM) do Food and Drug Administration (FDA). Os responsáveis por este documento também gostariam de ser informados a respeito de toxicidades relacionadas ao tratamento para que este protocolo possa ser aperfeiçoado.

**Tabela IV. Cronograma de tratamento para elefantes com cultura positiva para MTB. Adaptado de ATS 2003.**

Fase da terap.	Objetivos	nº de drogas usado	Frequência	Duração d fase	nº de doses
Inicial	Diminuir população bacteriana. Diminuir risco de desenvolvimento de resistência	3 ou 4 concomitantemente com INH*	5 tratamentos por semana	8 semanas	40 doses
Continuação	Continuar eliminação bacteriana	2 ou 3 concomitantes	3 tratamentos por semana	64 semanas	192 doses
Combinação	Uso em elefantes que demonstrem sinais de toxicidade durante a fase inicial (acima)	3 drogas a 2x a dose descrita na seção anterior	3 tratamentos por semana	72 semanas	216 doses

INH = isoniazida

**Tabela V. Dosagem inicial de drogas para tratamentos de elefantes com Mtb**

<b>Droga</b>	<b>1º ou 2º</b>	<b>Via</b>	<b>Dose**</b>
Isoniazida (INH)	Primária	Oral ou retal	2 mg/kg
Rifampin (RIF)	Primária	Oral	10 mg/kg
Etambutol (ETH)	Primária	Oral	15 mg/kg
Pirazinamida (PZA)	Primária	Oral ou retal	20 mg/kg
Enrofloxacina (ENRO)	Secundária	Oral ou retal	15 mg/kg

Drogas primárias são drogas de primeira linha micobactericidas e são consideradas necessárias para o tratamento de Mtb bem-sucedido. Drogas secundárias são consideradas drogas adjuntas a serem usadas em terapia combinada. A seleção de duas drogas primárias ou de primeira linha é recomendada para uma terapia antituberculosa combinada bem-sucedida.

Há relatos de elefantes infectados com cepas de Mtb resistentes à INH. Aqui também não há recomendações claras para o tratamento e cada caso deve ser manejado individualmente em consulta com farmacologistas e veterinários com experiência tratando elefantes positivos para Mtb.

**Tabela VI. Vias de administração\***

<b>Via</b>	<b>Técnica</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>	<b>Comentários</b>
Oral	Solicita-se que o animal abra a boca. Dose completa administrada em tabletes ou solução	Não doloroso	Animais podem recusar ou cuspir medicamento ou segurar medicamento na boca não engolir	Um bloco de mordida pode facilitar o sucesso. Adequado para PZA, ENRO, RIF, ETH e INH
Retal	Droga é dissolvida em água e administrada no reto com seringa e tubo	Pode resultar em absorção elevada. Administração de drogas eficiente	Nem todas as drogas podem ser aplicadas por esta rota, embora ETH e RIF possam ser formuladas especificamente alterando seu pH	Fezes devem ser removidas manualmente antes da administração. Adequado para ENRO, PZA, INH
Injetável	Drogas são administradas via intramuscular com seringa e agulha	Confirma-se que a dose completa foi dada	Doloroso. Causa lesão muscular e associada a risco de abscessos	Não recomendada a longo prazo. Pode ser adequada para uso em curto prazo em situações específicas. Possível para ENRO

\*Todas as vias de administração necessitam de treinamento prévio do elefante

### **Protocolo Recomendado de Monitoramento Durante Tratamento e Imediatamente após seu Término:**

1. Submeter à cultura um lavado de tromba (LT) a cada semana pelos primeiros dois meses de tratamento, então triplo LT uma vez ao mês até o fim do tratamento.
2. Se qualquer LT resultar positivo durante o tratamento, reavaliar sensibilidade dos organismos e *spoligotyping* para determinar se há presença de um novo isolado. Dependendo das observações clínicas, as opções a seguir podem ser consideradas.
  - a. Aumento da quantidade de INH por dose
  - b. Adicionar uma quinta droga
  - c. Substituir uma das drogas, exceto a INH

#### **Abastecimento de medicamentos**

Medicamentos podem ser adquiridos em grande volume para o tratamento. Amostras de novas levas de medicamentos em massa devem ser testados para pureza e medição de níveis de atividade das drogas. Amostras podem ser enviadas para o Infectious Disease Pharmacokinetic Laboratory da University of Florida. Contato: Dr. Charles Peloquin – [peloquinlab@cop.ufl.edu](mailto:peloquinlab@cop.ufl.edu).

Recomenda-se que além do teste de pureza, deve-se adquirir as drogas de uma farmácia licenciada e de farmácias de manipulação certificadas. Muitas instituições tiveram que obter permissão do FDA para importar grandes quantidades de drogas antituberculose para seus elefantes.

#### **Avaliação de níveis terapêuticos das drogas**

Níveis de drogas podem ser medidos em soro ou plasma. Plasma é vantajoso pois não necessita de espera para coagulação e centrifugação. Amostrar devem ser colhidas em tubos de heparina lítica. Amostras de plasma podem ser enviadas para o Dr. Charles Peloquin – [peloquinlab@cop.ufl.edu](mailto:peloquinlab@cop.ufl.edu). Recomenda-se contatar o Dr. Peloquin previamente para orientações relativas a tempo, coleta das amostras e envio.

Níveis sanguíneos de todas as drogas antituberculose devem ser medidos após a segunda semana de terapia. Se os níveis estão apropriados, uma segunda medição dos níveis deve ser realizada após seis meses de tratamento, assegurando-se que os níveis se mantêm adequados. Se os níveis estão inadequados, as doses devem ser alteradas e reavaliados após o elefante estar na nova dose por duas semanas.

O tratamento deve ser baseado em resultados de cultura e sensibilidade. Evidências recentes indicam que há variação individual na farmacocinética das diferentes drogas antituberculose. Farmacocinética também varia de acordo com a via de administração (oral vs. retal). Portanto, uma curva de farmacocinética própria é necessária para cada animal em tratamento. (Brock et al 2014).

Abaixo são listados os pontos de início de monitoramento das drogas. (Brock et al 2014)

**Tabela VII: Monitoramento de drogas terapêuticas antituberculose em elefantes**

<b>Droga</b>	<b>Via</b>	<b>Tempo de amostragem para Tmax*</b>
Rifampin	Oral	6-8 horas
Rifampin	Retal	Não pode ser administrada por esta via
Isoniazida	Oral	2-3 horas
Isoniazida	Retal	Aproximadamente 30 minutos
Pirizinamida	Oral	2-4 horas
Pirizinamida	Retal	0,75-2 horas
Etambutol	Oral	1-3 horas
Etambutol	Retal	Não pode ser administrada por esta via
Enrofloxacina	?	?

\*Tmax = tempo após a administração de uma droga em que a concentração plasmática máxima é obtida

### **Manejo do Animal**

As prioridades do manejo de um elefante infectado por Mtb incluem otimizar sua saúde e bem-estar enquanto se previne a transmissão de Mtb para outros elefantes saudáveis, outras espécies animais e a equipe da instituição. Estratégias de manejo variam de monitoramento da doença a tratamento. Em circunstâncias raras, o isolamento do animal infectado ou sua eutanásia devem ser considerados. O plano de tratamento e manejo deve ser desenvolvido levando em total consideração as regras da instituição e as melhores práticas profissionais.

Transmissão entre elefantes parece ter ocorrido em algumas instituições. A falta de certeza na determinação do modo exato de transmissão de Mtb entre elefantes sugere a necessidade de precauções básicas de bio-contenção.

### **Bio-contenção e redução de dispersão de Mtb no ambiente**

O desenvolvimento de procedimentos razoáveis de bio-contenção é específico para cada instituição. O veterinário responsável e a equipe de tratadores de elefantes devem trabalhar juntos para formular o plano de manejo físico do elefante infectado. O plano deve ser revisado junto com o veterinário do estado e agentes de saúde pública. Procedimentos de bio-contenção devem ser instituídos o mais rapidamente possível. Iniciar o tratamento de um elefante infectado assim que sensibilidade bacteriana for determinada reduz a exposição dos outros animais e da equipe de funcionários a Mtb. Embora fômites não sejam considerados um fator de risco para transmissão, deve-se tomar cuidado para que resíduos, cama e substratos sejam removidos da área de bio-contenção e manuseados de forma que se limite exposição a humanos e outros animais. Alimento, feno e substrato para outros animais deve ser mantido afastado de áreas de bio-contenção.

### **Manejo de um elefante infectado por Mtb**

Quando uma infecção por Mtb é confirmada num elefante através de cultura de lavado de tromba (LT), o elefante não deve ser transportado a não ser que o transporte seja parte de plano para alojamento e tratamento médico do mesmo. O veterinário responsável deve consultar a legislação e os agentes de saúde pública estaduais a respeito de resultados de monitoramento e vigilância antes de revogar uma suspensão de transporte.

O método de manejo preferido para um elefante Mtb-positivo é prevenir ou restringir contato direto entre ele e elefantes negativos até que ele seja confirmado que ele não esteja eliminando organismos de Mtb. Porém, elefantes são animais altamente sociais e podem sofrer psicologicamente se mantidos em isolamento total de seu grupo. Portanto, isolamento pode incluir co-alojamento do animal infectado com companheiro(s) mais antigo(s). A probabilidade de transmissão para outros elefantes pode ser sensivelmente reduzida em ambiente aberto, ao invés de confinados. Quando confinamento é necessário, assegurar uma alta renovação de ar através de filtros reduzirá exposição. Se o isolamento completo do elefante infectado for escolhido, deve-se se certificar que o animal terá acesso a enriquecimento, treinamento e interação com os tratadores adequadamente. O veterinário pode considerar interações sociais diretas com o grupo assim que o tratamento estiver sendo recebido de forma confiável, níveis sanguíneos das drogas avaliados e culturas de LT repetidas durante o tratamento permanecerem negativas. Se o isolamento não é possível, a limitação do ar compartilhado dentro do confinamento através de aumento de fluxo de ar e ventilação dentro dos estábulos é recomendada. O tratamento profilático de contatantes não é recomendado, uma vez que aumentaria a seleção de cepas resistentes. Aumento da vigilância de animais do grupo para, no mínimo, a frequência da Categoria B é recomendada, a critério do veterinário responsável.

#### **Equipe de tratadores dos elefantes**

Toda equipe trabalhando em uma área suspeita/confirmada de contaminação por Mtb deve utilizar equipamentos de proteção individual, máscaras de proteção respiratória (N-95 ou superior) por todo tempo, de acordo com as normas da OSHA. EPIs devem continuar sendo usados até ser determinado que o risco ocupacional foi solucionado através de consulta às autoridades de saúde pública. Veja a Seção de Saúde Ocupacional, página 25.

#### **Desinfecção dos recintos**

Desinfecção apropriada das áreas internas ocupadas por um elefante infectado deve ser realizada. Matéria orgânica deve ser removida de todas as áreas antes do uso de um desinfetante. Práticas gerais de limpeza devem minimizar a criação de aerossóis em espaços internos. Mangueiras de alta pressão devem ser evitadas (Murphee 2011). A aplicação de desinfetante fenólico ou qualquer outro micobactericida deve ser realizada de acordo com seus rótulos. Onde há pedilúvios, devem ser utilizados desinfetantes micobactericidas ativos mesmo na presença de pequena quantidade de matéria orgânica. Pedilúvios devem ser limpos e reabastecidos diariamente.

O Centro para Segurança Alimentar e Saúde Pública (CFSPH) publica um guia revisando desinfetantes eficientes contra espécies de micobactérias. Este guia pode ser encontrado em [www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/index.php](http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/index.php)

## Transmissão do *Mycobacterium tuberculosis*

### **Transmissão de Mtb entre humanos**

Mtb é uma doença bastante estudada em medicina humana e os parâmetros da transmissão entre humanos são comparativamente bem definidos. Em humanos, a Mtb é transmitida através de contato próximo com outra pessoa que está eliminando o organismo.

De acordo com Heyman 2008: “A transmissão é afetada pela exposição aos bacilos tuberculosos presentes no ar através de núcleos de gotículas de aerossol, medindo de 1 a 5 microns de diâmetro, produzidos por pessoas com tuberculose pulmonar ou em trato respiratório superior (por exemplo, laringe) durante expiração forçada (como tosse, espirros e cantando). Os núcleos de gotículas são inalados por um contato vulnerável até os alvéolos pulmonares. Aqui, as partículas aerossolisadas contendo *M. tuberculosis* são fagocitadas pelos macrófagos alveolares, iniciando uma nova infecção. O risco de exposição e subsequente infecção está relacionada com a intimidade e duração do contato, a ventilação do ambiente compartilhado e o grau contagioso do caso índice.”

Contato indireto com uma pessoa dispersando o organismo dificilmente resultará em transmissão. Em um ambiente fechado restrito, a probabilidade da transmissão de Mtb entre humanos é influenciada por volume, taxa de exaustão, tempo e circulação de ar. Em grandes ambientes internos, devido a difusão e padrões de circulação locais, o grau de proximidade entre contatos e o paciente índice podem influenciar a probabilidade de transmissão. Outros fatores ambientais sutis (como umidade e iluminação) não são considerados relevantes para a transmissão. O volume de ar compartilhado entre um paciente infectado por TB e contatos dilui as partículas infecciosas, embora esta relação não tenha sido totalmente validada por resultados epidemiológicos.

Enquanto não há definição específica quanto ao contato prolongado na transmissão de Mtb entre humanos, a probabilidade de infecção depende da intensidade, frequência e duração da exposição. Por exemplo, passageiros aéreos que se sentaram por mais de 8 horas na mesma fileira ou na adjacente de uma pessoa contagiosa têm uma probabilidade maior de serem infectados que os outros passageiros e apenas estes seriam contactados por investigadores de saúde pública no acompanhamento de um cenário de exposição a um Mtb (+) conhecido. (National Tuberculosis Controllers Association 2005).

Outras vias de exposição à Mtb em humanos não foram documentadas ou não são consideradas significantes. Além disso, a forma de transmissão aerógena significa que fômites não são uma preocupação e não requerem manuseio especial. (Heymann 2008).

### **Transmissão de Mtb entre elefantes**

Infecções iniciais de Mtb em elefantes foram sugeridas de surgirem a partir de contato com humanos infectados, mas não existe evidência direta bem documentada para confirmar esta suspeita. Infecção por Mtb, entretanto, não é documentada como doença em elefantes selvagens sem contato próximo a humanos. Infecções por *Mycobacterium bovis* são documentadas em elefantes africanos selvagens e em um elefante africano em cativeiro nos Estados Unidos (Payeur 2002). Organismos de Mtb têm sido transmitidos entre elefantes num mesmo rebanho baseado na proximidade genética dos organismos isolados, porém a transmissão não parece ser eficiente ou rotineira. Até o momento, não há estudos documentando como a transmissão elefante-elefante foi efetuada, mas presume-se que gotículas de aerossol e exposição prolongada similares à transmissão humano-humano

ocorrem, uma vez que os animais afetados eram companheiros de longa data, compartilhavam o mesmo estábulo e tinham contato tromba-a-tromba. Transmissão por fômites foi especulada, mas não foram encontradas evidências conclusivas (Vogelnest 2012).

### **Considerações sobre Saúde Ocupacional X Saúde Pública**

Em geral, Mtb é transmitida através de contato próximo e prolongado com uma pessoa ou animal disseminando o organismo. Isto é diferente do *M. bovis*, que é muito mais contagioso. Tratando-se de Mtb, contato incidental, indireto com pessoa ou animal que esteja disseminando o organismo dificilmente resultará em transmissão. Portanto, a transmissão da Mtb de elefantes para humanos é provavelmente uma preocupação de saúde ocupacional para pessoas que manejam os cuidados diários destes elefantes ao invés de uma questão de saúde pública. Nos Estados Unidos, instituições mantenedoras de elefantes podem oferecer oportunidades para membros do público em geral tocar, alimentar ou montar um elefante. Estas oportunidades são tipicamente oferecidas de uma maneira que essas pessoas não têm contato prolongado com os elefantes num espaço confinado. Portanto, tais contatos dificilmente constituem um risco de saúde pública. Isto é particularmente verdade com elefantes que passam por triagem de rotina e monitorados quanto a seu status de Mtb através de cultura de lavados de tromba (LT).

Estudos investigando o risco de transmissão a pessoas trabalhando com elefantes Mtb-positivos têm identificado certos fatores de risco para contrair a doença. Estes incluem manejo diário de elefantes, rotina de treinamento de elefantes e/ou participação ou estar presente durante uma necropsia de elefante envolvendo animal Mtb-positivo (Michalak et al 1998; Oh et al 2002; Murphree et al 2011; Lecu & Ball 2011). Em um estudo, o risco de conversão do teste intradérmico foi mais alto para tratadores de elefantes e pessoal administrativo trabalhando no alojamento do elefante ou em escritórios conectados ao alojamento. Práticas de manejo que aerossolizam organismos Mtb e controle de infecção tardio ou inadequado provavelmente contribuem para a transmissão. (Davis 2001; Murphree et al 2011; Oh et al 2002; Montali et al 2001; Mikota & Maslow 2011; Michalak 1998; National Tuberculosis Controllers Association 2005; Vogelnest 2013; Lecu & Ball 2011).

Investigadores se esforçaram para determinar o número de trabalhadores cujo teste de tuberculina intradérmico converteu de negativo para positivo enquanto trabalhavam semanas ou meses num estábulo de um elefante com cultura positiva. Entretanto, estudos epidemiológicos controlados associando os riscos de se trabalhar com elefantes infectados ainda não existem. Até que tais estudos sejam relatados, é razoável que tratadores de elefantes e outros que trabalhem rotineiramente com elefantes monitorem seus status de tuberculose e utilizem equipamentos de proteção individual (EPI) apropriados para diminuir a chance de exposição à tuberculose ao trabalhar com um animal infectado. Veja Recomendações de Saúde Ocupacional a seguir.

Embora não haja definição específica do que seria contato prolongado entre uma pessoa e um elefante, investigações sugerem que várias horas ou mais de exposição a um elefante infectado é provavelmente necessário para resultar em impacto à saúde humana. Mais especificamente, um estudo determinou que funcionários de uma instituição que passavam mais de 4 horas num alojamento de quarentena durante um ano no qual ali permaneceu um elefante com cultura positiva sem tratamento apresentaram um risco maior de conversão no teste intradérmico. Práticas de limpeza do recinto neste local permitiam aerossolização de bactérias. Alto risco também foi determinado para funcionários em um prédio adjacente com



ar não filtrado compartilhado com esse recinto. (Murphree et al 2011). Outro estudo encontrou que pessoas que apresentaram conversão do teste de tuberculina intradérmico foram as que despenderam pelo menos 10 horas dentro de um recinto de elefante com cultura positiva para Mtb. (Stephens et al 2013).

### **Recomendações de Saúde Ocupacional**

Gestores e veterinários de instituições mantenedoras de elefantes devem consultar os veterinários de saúde pública de seus respectivos estados e são encorajados a desenvolver um programa de saúde ocupacional consultando estes especialistas em saúde ocupacional. Recomenda-se que tais protocolos levem em consideração a espécie de elefante mantida na instituição, o histórico de saúde e de testes diagnósticos desses elefantes e o tipo de contato que o público em geral pode ter com estes animais. Tais protocolos devem incluir procedimentos para:

- Exames de rotina de tuberculose para funcionários que trabalhem com elefantes. Todos os funcionários relevantes na equipe devem ser checados anualmente e antes de começar a trabalhar com elefantes no intuito de proteger tanto a saúde humana quanto animal
- Funcionários com esfregaço de esputo ácido-rápido positivo. Estes indivíduos não devem trabalhar diretamente com elefantes até que se determine se os achados laboratoriais representam infecção com um organismo do complexo *M. tuberculosis*.
- Educação da equipe sobre prevenção de doenças zoonóticas
- Orientação da equipe sobre testes diagnósticos ou sintomas consistentes com infecção ativa de tuberculose humana
- Práticas de controle de infecção, sanitárias e de rotina higiênica incluindo orientações para redução de transmissão de Mtb por aerossóis diretos ou indiretos.
- Treinamento dos funcionários para o uso de EPIs

Diretores de instituições mantenedoras de elefantes devem consultar o Departamento de Saúde de seu estado para orientação a respeito da necessidade de relatar casos de tuberculose humana e em animais. A lista completa de Veterinários de Saúde Pública Estaduais e de Epidemiologistas Estaduais pode ser acessada no website do Conselho Estadual e Territorial de Epidemiologistas em “points of contact” em [www.cste.org](http://www.cste.org). Leis sobre relato obrigatório de doenças variam de acordo com o estado. (National Association of State Public Health Veterinarians 2005; Montali et al 2001).

### **Fontes de Informações sobre Saúde e Segurança Ocupacionais**

- Manual de tuberculose da Agência de Segurança e Saúde Ocupacional (OSHA). A OSHA tem normas para registro e relato de infecção por tuberculose adquirida em ambiente de trabalho. Elas estão presentes em <http://www.osha.gov/SLTC/tuberculosis>.
- O *Manual para Prevenção de Transmissão de Mycobacterium tuberculosis em ambientes de cuidados de saúde* do Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) está disponível em <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/rr/rr5417.pdf>. Embora não seja específico para cuidados com elefantes, contém considerações e orientações valiosas para trabalhadores expostos a uma fonte de tuberculose.
- O documento do CDC *Biossegurança em Laboratórios Microbiológicos e Biomédicos* publicado pelo Departamento Norte-americano de Saúde e Serviços

Humanos em 2007. Este documento aborda as melhores práticas para uma conduta segura de trabalho em relação ao *Mycobacterium tuberculosis* em laboratórios clínicos e biomédicos e instituições com animais e está disponível em <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/index.htm>

- O guia de orientações para respiradores do CDC/Instituto Nacional para Segurança Ocupacional (NIOSH). As Informações de Saúde de Fontes Confiáveis sobre Respiradores estão localizadas em [http://www.cdc.gov/niosh/npptl/topics/respirators/disp\\_part/RespSource.html](http://www.cdc.gov/niosh/npptl/topics/respirators/disp_part/RespSource.html). Este website oferece informações sobre o uso apropriado e tipos de respiradores.
- Guia de desinfecção do Centro Estadual para Segurança Alimentar e Saúde Pública de Iowa (CFSPH). Este guia revisa desinfetantes, inclusive aqueles eficazes contra micobactérias e pode ser encontrado em <http://www.cfsph.iastate.edu/Disinfection/index.php>.
- *Compêndio de Precações Veterinárias Padrão para Prevenção de Doenças Zoonóticas em Pessoal Veterinário*. Este manual foi desenvolvido pela Associação Nacional de Veterinários Estaduais de Saúde Pública em resposta ao reconhecimento crescente dos riscos ocupacionais inerentes à prática veterinária e à necessidade de orientação para controle de infecções por veterinários. Disponível em <http://www.nasphv.org/documentsCompendia.html>.

## **Apêndice 1: Referências**

1. American Thoracic Society, Centers for Disease Control and Prevention, Infectious Diseases Society of America. Treatment of tuberculosis. Morbidity and mortality weekly report 2003; 52:1-80.
2. Angkawanish T, Morar D, Kooten Pv, et al. The elephant interferon gamma assay: a contribution to diagnosis of tuberculosis in elephants. *Transboundary and emerging diseases* 2013; 60:53-59.
3. Bontekoning I. Tuberculosis detection in the Asian elephant (*Elephas maximus*) population of Thailand. 1. Development of an IFN-gamma assay 2. Evaluation of a multiple antigen iELISA and a commercial rapid test. In. Thailand: Kasetsart University, Bangkok, Chiang Mai University, Chiang Mai Utrecht University, Utrecht; 2009:29 pages.
4. Boyd J. Serum enzymes in the diagnosis of disease in man and animals. *Journal of comparative pathology* 1988; 98:381-404.
5. Brock AP, Isaza R, Egelund EF, et al. The pharmacokinetics of a single oral or rectal dose of concurrently administered isoniazid, rifampin, pyrazinamide, and ethambutol in Asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 2014.
6. Chalke HD. The impact of tuberculosis on history, literature and art. *Medical history* 1962;6:301-318.
7. Davies GR, Neurmberger EL. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of anti-tuberculosis drugs. *Tuberculosis* 2008;88: S65-S74.
8. Davis M. *Mycobacterium tuberculosis* risk for elephant handlers and veterinarians. *Parasitology international* 2001; 16:350-353.
9. Feldman M, Isaza R, Prins C, et al. Point prevalence and incidence of *Mycobacterium tuberculosis* complex in captive elephants in the United States. *Veterinary quarterly* 2013; 33:25-29.
10. Greenwald R, Lyashchenko O, Esfandiari J, et al. Highly accurate antibody assays for early and rapid detection of tuberculosis in African and Asian elephants. *Clinical and vaccine immunology* 2009; 16:605-612.
11. Griffin J, Buchan G. Aetiology, pathogenesis and diagnosis of *Mycobacterium bovis* in deer. *Veterinary Microbiology* 1994; 40:193-205.
12. Heymann DL. Control of communicable diseases manual. Washington, D.C.: American Public Health Association; 2008.
13. Isaza R, Ketz C. A trunk wash technique for the diagnosis of tuberculosis in elephants. In: *Verhandlungsbericht des Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere*, Vienna 1999;121-124.
14. Isaza R, Wiedner E, Hiser S, et al. Reference intervals for acute phase protein and serum protein electrophoresis values in captive Asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2014; 26:616-621.

15. Lacasse C, Terio K, Kinsel MJ, et al. Two cases of atypical mycobacteriosis caused by *Mycobacterium szulgai* associated with mortality in captive African elephants (*Loxodonta africana*). *Journal of zoo and wildlife medicine* 2007; 38:101-107.
16. Lambert M-L, Hasker E, Van Deun A, et al. Recurrence in tuberculosis: relapse or reinfection? *The Lancet infectious diseases* 2003; 3:282-287.
17. Landolfi JA, Miller M, Maddox C, et al. Differences in immune cell function between tuberculosis positive and negative Asian elephants. *Tuberculosis* 2014; 94:374-382.
18. Larsen RS, Salman MD, Mikota SK, et al. Evaluation of a multiple-antigen enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in captive elephants. *Journal of zoo and wildlife medicine* 2000; 31:291-302.
19. Léçu A, Ball R. Mycobacterial infections in zoo animals: relevance, diagnosis and management. *International zoo yearbook* 2011; 45:183-202.
20. Maslow JN, Mikota SK, Zhu M, et al. Population pharmacokinetics of isoniazid in the treatment of *Mycobacterium tuberculosis* among Asian and African elephants (*Elephas maximus* and *Loxodonta africana*). *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 2005; 28:21-27.
21. Maslow JN, Mikota SK, Zhu M, et al. Pharmacokinetics of ethambutol (EMB) in elephants. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 2005; 28:321-323.
22. Michalak K, Austin C, Diesel S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* infections as a zoonotic disease: transmission between humans and elephants. *Emerging infectious diseases* 1998; 4:283-287.
23. Mikota SK, Maslow JN. Tuberculosis at the human-animal interface: An emerging disease of elephants. *Tuberculosis* 2011; 91:208-211.
24. Mikota SK, Peddie L, Peddie J, et al. Epidemiology and diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* in captive Asian elephants (*Elephas maximus*). *Journal of zoo and wildlife medicine* 2001; 32:1-16.
25. Montali RJ, Mikota SK, Cheng LI. *Mycobacterium tuberculosis* in zoo and wildlife species. *Review of science and technology* 2001; 20:291-303.
26. Murphree R, Warkentin JV, Dunn JR, et al. Elephant-to-human transmission of tuberculosis, 2009. *Emerging infectious diseases* 2011; 17:366-371.
27. National Association of State Public Health Veterinarians. Compendium of measures to prevent disease associated with animals in public settings, 2005. *MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report* Recommendations and reports/Centers for Disease Control 2005; 54:1.
28. National Tuberculosis Controllers Association. Guidelines for the investigation of contacts of persons with infectious tuberculosis. Recommendations from the National Tuberculosis Controllers Association and CDC. *MMWR Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report, Recommendations and reports/Centers for Disease Control* 2005;54:1.
29. Oh P, Granich R, Scott J, et al. Human exposure following *Mycobacterium tuberculosis* infection of multiple animal species in a metropolitan zoo. *Emerging infectious diseases* 2002;8.

30. Papastavros T, Dolovich LR, Holbrook A, et al. Adverse events associated with pyrazinamide and levofloxacin in the treatment of latent multidrug-resistant tuberculosis. *CMAJ* 2002; 167:131-136.
31. Payeur J, B., Jarnagin JL, Marquardt JG, et al. Mycobacterial isolations in captive elephants in the United States. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2002; 969:256-258.
32. Saukkonen JJ, Cohn DL, Jasmer RM, et al. An official ATS statement: hepatotoxicity of antituberculosis therapy. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2006; 174:935-952.
33. Scheftel JM, Elchos BL, Cherry B, et al. Compendium of veterinary standard precautions for zoonotic disease prevention in veterinary personnel: National Association of State Public Health Veterinarians Veterinary Infection Control Committee 2010. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 2010; 237:1403.
34. Stephens N, Vogelnest L, Lowbridge C, et al. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from an Asian elephant (*Elephas maximus*) to a chimpanzee (*Pan troglodytes*) and humans in an Australian zoo. *Epidemiology and infection* 2013; 141:1488-1497.
35. Thompson NP, Caplin ME, Hamilton MI, et al. Anti-tuberculosis medication and the liver: dangers and recommendations in management. *European respiratory journal* 1995; 8:1384-1388.
36. Verma-Kumar S, Abraham D, Dendukuri N, et al. Serodiagnosis of Tuberculosis in Asian Elephants (*Elephas maximus*) in Southern India: A Latent Class Analysis. *PLoS one* 2012;7.
37. Vogelnest L. Tuberculosis: an emerging zoonosis. *New South Wales Public Health Bulletin* 2013; 24:32-33.
38. Vogelnest L, Hust F, Vinette HK, et al. Diagnosis and management of tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) in an Asian elephant in Australia. In: *Mycobacterial diseases of wildlife* 2012;242.
39. Wiedner E, Schmitt DL. Preliminary report of side effects associated with drugs used in the treatment of tuberculosis in elephants. In: *Proceedings of the international elephant foundation meeting, Orlando, FL* 2007;15-20.
40. Wilson E, Mikota S, Bradford JP, et al. Seropositive, culture negative tuberculosis in an Asian elephant (*Elephas maximus*). In: *AAZV, AAWV Joint Conference, South Padre Island, Texas* 2010;170.
41. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, et al. Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2003; 167:1472-1477.
42. Younossian AB, Rochat T, Ketterer JP, et al. High hepatotoxicity of pyrazinamide and ethambutol for treatment of latent tuberculosis. *European respiratory journal* 2005; 26:462-464.
43. Zhu M, Maslow JN, Mikota SK, et al. Population pharmacokinetics of pyrazinamide in elephants. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics* 2005; 28:403-409.

## Apêndice 2.

### **Definições Epidemiológicas**

Há uma grande quantidade de termos epidemiológicos aplicáveis a qualquer doença infecciosa, e isso deve ser entendido para facilitar tomadas de decisão clínicas sensatas e aplicação de tratamento e medidas de gerenciamento para Mtb. É necessário que o clínico considere o que se conhece tanto sobre a epidemiologia da Mtb quanto as modalidades de testes diagnósticos disponíveis. Abaixo encontram-se algumas definições para se compreender a interpretação de testes diagnósticos e a epidemiologia da doença.

**Testes Diretos de Mtb:** Testes que determinam a presença de *Mycobacterium tuberculosis* na amostra. Estes testes podem determinar organismos viáveis (i.e., cultura) ou componentes potencialmente não-viáveis do organismo, como fragmentos de DNA (i.e., PCR) ou proteínas.

**Testes Indiretos de Mtb:** Testes que medem ou detectam uma resposta imune do animal ao *Mycobacterium tuberculosis*.

**Sensibilidade:** Medida da habilidade de um teste de identificar animais infectados. Sensibilidade é a frequência de um resultado de teste positivo ou anormal (i.e., um teste fora do intervalo de referência) quando uma doença está presente (i.e., a porcentagem de resultados verdadeiros positivos).  $\text{Sensibilidade} = [\text{VP} \div (\text{VP} + \text{FN})] \times 100$ , onde VP = verdadeiro positivo; FN = falso negativo. A validação da sensibilidade do teste necessita da inclusão do espectro completo de estados da doença. A sensibilidade do teste pode variar entre populações. Não há teste para *Mycobacterium tuberculosis* 100% sensível.

**Especificidade:** Medida da habilidade de um teste de identificar animais não infectados. Especificidade é a frequência de um resultado negativo ou “normal” quando a doença está ausente (i.e., a porcentagem de resultados verdadeiros negativos (VN)).  $\text{Especificidade} = [\text{VN} \div (\text{VN} + \text{FP})] \times 100$ . A validação da especificidade do teste necessita da inclusão do espectro completo de estados da doença. A especificidade do teste pode variar entre populações. Não há teste para *Mycobacterium tuberculosis* 100% específico.

**Valor Preditivo Negativo:** Um valor numérico para a proporção de indivíduos com resultado de teste negativo que apresentam tal condição (i.e., a probabilidade da pessoa que tem o teste negativo ser um verdadeiro negativo). Esta probabilidade é relevante para determinar a utilidade do teste quando aplicado a animais de status sanitário desconhecido e é clinicamente mais importante que sensibilidade e especificidade do teste. O valor preditivo negativo de testes diagnósticos pode ser baixo em populações com alta prevalência da doença.

**Valor Preditivo Positivo:** Um valor numérico para a proporção de indivíduos com resultado de teste positivo que apresentam tal condição (i.e., a probabilidade da pessoa que tem o teste positivo ser um verdadeiro positivo). Esta probabilidade é relevante para determinar a utilidade do teste quando aplicado a animais de status sanitário desconhecido e é clinicamente mais importante que sensibilidade e especificidade do teste. O valor preditivo positivo de testes diagnósticos pode ser baixo em populações com baixa prevalência da doença.

**Análise de Riscos:** As fases de uma análise de risco, de acordo com o Código da Organização Internacional de Epizootias (OIE), incluem identificação de perigos, avaliação de riscos, manejo de riscos e comunicação de riscos. Dados para a condução de análise de riscos para tuberculose

em elefantes são limitados, embora a consideração qualitativa de partes da avaliação e análise de riscos é útil para o gerenciamento dos riscos de tuberculose.

**Avaliação de Riscos:** O processo de avaliar a possibilidade de exposição, infecção ou disseminação de uma doença. É uma parte da análise formal de riscos. As partes de uma avaliação de riscos incluem avaliação de soltura, exposição e consequências, assim como estimativa de riscos. Dados para a condução de avaliação de riscos para tuberculoses em elefantes são limitados, embora a consideração qualitativa de partes da avaliação formal de riscos e análise de riscos é útil para a avaliação dos riscos de tuberculose.

**Cultura de Lavado de Tromba (LT):** Um teste direto projetado para detectar organismos Mtb viáveis através de cultura de material obtido por um lavado de tromba. É um método prático de se obter amostra para cultura de uma grande proporção da população de elefantes. O procedimento não requer sedação ou stress excessivo no elefante. Além disso, o procedimento não necessita de equipamento especializado ou caro. A rotina recomendada para monitoramento de Mtb é a cultura de lavado de tromba anual triplo. Cada evento de teste deve consistir de três coletas independentes em três dias dentro do prazo de uma semana. Recomenda-se que seja realizado jejum alimentar e hídrico por duas horas antes da realização do LT para ajudar a reduzir a contaminação da amostra.

**Elefante Infectado por Mtb:** Um elefante do qual se isolou uma cultura Mtb-positiva a partir de uma lesão ou secreção.

### **Apêndice 3.**

#### **Técnica de Lavado de Tromba para Diagnóstico e Vigilância de Rotina para Mtb em Elefantes (Isaza & Ketz 1999)**

##### **Sumário**

Um lavado de tromba é um método prático de coletar amostras do trato respiratório distal de um elefante para cultura de *Mycobacterium*. O procedimento, entretanto, é potencialmente perigoso para os tratadores e requer a cooperação do elefante. Por causa das limitações em se utilizar resultados de cultura como teste de triagem, os resultados do lavado de tromba devem ser interpretados com cuidado. Um resultado de cultura positivo identifica um elefante que está disseminando organismos tuberculosos, enquanto que um resultado negativo é não-diagnóstico.

##### **Materiais e métodos**

A técnica de lavado de tromba necessita que o elefante permita que os tratadores contenham e manipulem a ponta da tromba. Isto é difícil de se realizar num elefante não treinado pois a maioria dos elefantes não toleram esta manipulação, e a tromba é muito mais forte que um grande grupo de funcionários juntos. Portanto é importante que os animais sejam treinados a oferecer a tromba, permitir que ela seja gentilmente contida manualmente e ter sua ponta manipulada durante a coleta da amostra. O período de treinamento varia com o indivíduo, o estágio prévio de condicionamento comportamental do animal e da habilidade dos tratadores. Em nossa experiência, a maioria dos animais pode ser adequadamente treinada para o procedimento em 2-4 semanas.

##### **Materiais Necessários**

- Solução salina 0,9% estéril
- Seringa de 60 ml estéril
- Sacola plástica do tipo “ziplock” com 1 galão de capacidade
- Jarro plástico ou tubo de centrífuga de 50ml, com tampa rosqueada

Enquanto se der atenção a coletar uma amostra limpa das vias nasais distais, os materiais e técnica de coleta de amostra podem ser modificados. Por exemplo, alguns clínicos preferem utilizar uma sonda gástrica de borracha calibre 14G inserida na ponta da tromba ao invés de simplesmente esguichar solução salina estéril dentro da ponta da tromba. Outra variação comum é utilizar um recipiente plástico para recolher o fluido do lavado de tromba ao invés da sacola plástica.

##### **Procedimento**

A rotina de triagem de um elefante deve consistir de uma série de três amostras de lavado de tromba colhidas em dias diferentes dentro do período de uma semana, i.e., série ou coleta tripla de lavado de tromba. Lavados de tromba devem ser coletados pela manhã e antes de se oferecer água para o animal ou após jejum alimentar e hídrico de pelo menos 2 horas. Estas recomendações são feitas visando obter uma amostra representativa da microbiota nasal da noite anterior e evitar o efeito de diluição causado pelos elefantes beberem água utilizando suas trombas.

A tromba do elefante é contida manualmente pelos tratadores de forma que a ponta aponte para cima. A seringa de 60 ml preenchida de solução salina é então inserida em uma das narinas e a solução rapidamente esguichada dentro da tromba. O tratador, então, ergue a ponta da tromba o mais alto possível para proporcionar um fluxo maior para o interior da tromba. A sacola plástica é colocada sobre a ponta da tromba, que é abaixada para permitir que o líquido drene. Se possível,



é permitido que o elefante expire dentro da sacola durante esta fase da coleta. Uma boa amostra deve recuperar uma porção suficiente da solução salina colocada na tromba (aproximadamente 40 ml). A amostra deve conter muco visível e ocasionalmente contém partículas de comida e sujeira normalmente encontradas dentro da tromba. A coleta de quantidade moderada de material estranho não invalida a amostra. Se, entretanto, o responsável sente que a contaminação é excessiva, um segundo lavado pode ser obtido.

Uma vez a amostra colhida na sacola plástica, a mesma deve ser transferida cuidadosamente para um recipiente com identificação. Idealmente, a amostra deve ser refrigerada e enviada diretamente para um laboratório para processamento e cultura micobacteriana. Se a amostra não puder ser enviada diretamente para cultura, ela pode ser congelada em freezer convencional (-20 a -10°C) até que possa ser enviada para o laboratório. Geralmente, as três amostras diárias recomendadas para cultura são coletadas e congeladas até que todas as amostras sejam colhidas e enviadas juntas para o laboratório.

Lavado de tromba como método de coletar amostras de elefantes para cultura tornou-se o método padrão para triagem de Mtb em elefantes. É uma forma prática de se obter amostras para cultura de uma grande parte da população de elefantes. O procedimento não requer sedação ou causa grande stress ao animal. Além disso, o procedimento não necessita de equipamento especializado ou caro.

Uma consideração importante sobre este procedimento é que ele pode ser potencialmente perigoso para seus executores. Isto é particularmente verdade quando se tenta aplica-lo num elefante que não coopera, porque qualquer tentativa de conter manualmente a tromba de um elefante não-cooperativo pode levar a acidentes. O tempo investido no treinamento de um elefante em aceitar este método aumenta consideravelmente a eficácia e segurança do procedimento. Em alguns casos, com animais imprevisíveis ou potencialmente perigosos, um aumento no grau de segurança dos envolvidos na coleta pode ser obtido através da colocação do animal em decúbito esternal ou lateral antes da coleta. Esta técnica não garante a segurança ou sucesso da coleta, pois ainda requer a cooperação do animal e não substituiu treinamento adequado. Em caso de elefantes manejados através de contato protegido, a tromba do animal pode ser manipulada através de barras. Este método ainda necessita que o animal coopere totalmente com o procedimento e, conseqüentemente, exige treinamento adequado antes da coleta.

Uma segunda questão de segurança diz respeito a ao potencial de infecção zoonótica. Recentemente houve relato de uma transmissão zoonótica de tuberculose entre humanos e elefantes. Durante a coleta de amostra do lavado de tromba, há exposição ao muco aerossolizado do trato respiratório do elefante. Os autores, portanto, sugerem que os envolvidos no procedimento utilizem EPIs e máscaras de proteção, como a N-95. Precauções mínimas devem incluir um respirador ou máscara facial capazes de filtrar partículas de 0,3 micron, luvas descartáveis e trabalhar em área bem ventilada, com iluminação solar.

A cultura de micobactérias como método primário de detectar animais infectados tem diversas limitações que são melhor ilustradas examinando-se suposições biológicas básicas. A primeira suposição é de que a maioria dos elefantes infectados tem infecção respiratória. Embora a literatura sugira que a maioria dos elefantes infectados tenha infecção respiratória, não há estudos necroscópicos completos que confirmem estas observações. A segunda suposição é que a maioria dos animais infectados elimina os organismos micobacterianos pelo trato respiratório. Há poucos dados que determinem se e quando um animal infectado começa a disseminar

organismos. Não se conhece a proporção de elefantes que pode apresentar infecções latentes ou “isoladas” que não seriam detectadas através de técnicas de cultura. Uma terceira suposição é de que animais disseminando o organismo vão eliminar micobactérias pelo menos uma vez no período de três dias de testes. Atualmente é desconhecido se um animal disseminando micobactérias o faz periodicamente ou continuamente. Finalmente, as amostras coletadas da porção distal da tromba são geralmente contaminadas com microbiota normal e corpos estranhos. Supõe-se que estes contaminantes não estimulem ou mascarem o crescimento de micobactérias patogênicas, embora não existam estudos que testem esta suposição. A interpretação dos resultados de cultura deve, portanto, ser limitada. Um resultado de cultura positivo é forte evidência de que o animal está eliminando micobactérias e está infectado; resultados negativos proporcionam pouca informação sobre o elefante estar infectado ou não.

A cultura da porção distal das trombas de todos os animais de uma população apenas detectará animais disseminando tuberculose através da tromba e não todos os animais infectados. Entretanto, com o passar do tempo e a repetição de culturas de todos os animais em uma população, pode ser possível detectar e tratar a maior parte dos elefantes disseminando organismos infecciosos. Se estes animais forem tratados adequadamente e a disseminação de micobactérias cessar, a transmissão de tuberculose de elefante para elefante deve diminuir nesta população.

## **Apêndice 4**

### **Sugestões de Laboratórios Certificados para Cultura de Micobactérias**

#### **1. USDA APHIS VS**

##### **National Veterinary Services Laboratories (NVSL)**

1920 Dayton Avenue

Ames, IA 50100

Website do Laboratório:

[www.aphis.usda.gov/animal\\_health/lab\\_info\\_services/diagnos\\_tests.shtml](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/lab_info_services/diagnos_tests.shtml)

##### **Dr. Suelee Robbe-Austerman**

Veterinária, Seção de Micobactérias e Brucella

(515) 337-7837 Fax: (515) 337-7315

E-mail: [Suelee.Robbe-Austerman@aphis.usda.gov](mailto:Suelee.Robbe-Austerman@aphis.usda.gov)

**Tubos de centrífuga cônicos e à prova de vazamentos e tampa rosqueada são preferidos e obtidos sem custos pela NVSL**

**Envie lavados de tromba para o NVSL congelados ou em isopor com gelo por transportadora expressa** (A Federal Express trabalha com amostras diagnósticas). Recipientes devem ser à prova de vazamentos e embalados duplamente. Se forem enviadas lesões para cultura, os tecidos devem ser congelados e enviados em isopor com gelo de um dia para o outro. Tecidos lesionados devem ser repartidos e metade deve ser enviada para o laboratório de histopatologia a fim de se realizar PCR e determinar se o tecido é compatível com tuberculose. Não é realizada cobrança de histopatologia em tecido lesionado.

**Utilizar o formulário VS 10-4 para envio.** Se o tecido em formalina for enviado separadamente do tecido congelado, por favor, indique no formulário de envio que há 2 pacotes separados vindo de um mesmo animal para que os relatórios sejam combinados e números de cadastro coordenados ao chegarem ao NVSL. É interessante telefonar ou mandar e-mail para o NVSL ao enviar amostras de suspeitos de Mtb para agendamento de testes e discutir o histórico relevante do caso.

Custo de lavado de tromba no NVSL: US\$ 98 por amostra para processamento, incluída sondagem de DNA Gen Probe® em caso de isolamento. Se a amostra for positiva para micobactérias e for necessária a determinação de espécie, o custo é de US\$ 122 por amostra, incluindo análise bioquímica, análise de sequenciamento de rDNA 16s, *spoliotyping* e genotipagem VNTR. Identificação de *M. bovis* ou *M. tuberculosis* por DNA também está disponível. Teste de suscetibilidade a antimicrobianos está disponível para organismos do complexo *M. tuberculosis* por US\$ 112 por isolamento. Favor contatar o NVSL pelo telefone +1 515 337-7388 para agendamento de testes.

Para abertura de cadastro, contatar **Connie Osmundon** +1 515 337-7571 ou [Connie.J.Osmundson@aphis.usda.gov](mailto:Connie.J.Osmundson@aphis.usda.gov)

**(Valores de 1 de dezembro de 2014). Valores atuais em:**

[http://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/lab\\_info\\_services/diagnos\\_tests.shtml](http://www.aphis.usda.gov/animal_health/lab_info_services/diagnos_tests.shtml)

**2. Mycobacteriology Laboratory at National Jewish Medical and Research Center****National Jewish Medical and Research Center**

1400 Jackson St.  
Denver, CO 80206  
+1 303 398-1384

**Gerente dos Laboratórios Clínicos:**

Jamie Marola, MB (ASCP)  
National Jewish Health Advanced Diagnostic Laboratories  
+1 303.270.2479 Escritório  
+1 303.398.1339 Laboratório  
+1 720.290.2204 Celular  
+1 303.398.1953 Fax

**Supervisora de Laboratório Clínico:**

Kimberly Sue Messina, MT-ASCP  
Mycobacteriology Lab  
Room K422a  
Laboratório: +1 303-398-1339  
Escritório: +1 303-398-1347  
Celular: +1 469-323-1352

Para tabela de preços; instruções para coleta e envio de amostras e formulário de requisição: <http://www.nationaljewish.org/research/diagnostics/adx/labs/mycobacteriology/requisitions-and-specimen-handling.aspx>

**3. Laboratórios Estaduais de Saúde Pública ou outro Laboratório Certificado pelo CDL.**

Apêndice 5. Carta de comentários da NASPHV para o USDA em 28 de junho de 2012

## NATIONAL ASSOCIATION of STATE PUBLIC HEALTH VETERINARIANS, INC.

June 28, 2012

Janet B. Payeur DVM, MPH, PhD  
Chair, USAHA Elephant Tuberculosis Subcommittee  
Scientific Outreach Coordinator  
National Veterinary Services Laboratories  
1920 Dayton Avenue  
Ames, IA 50010

Dear Dr. Payeur:

On behalf of the National Association of State Public Health Veterinarians (NASPHV), I am providing summary comments on the April 2012 Draft Revision of *Guidelines for the Control of Tuberculosis in Elephants*. These comments represent a compilation of concerns and requests from a subcommittee of members, who share a particular interest and public health experience in responding to tuberculosis in elephants.

1) Description under airborne transmission: Comments received from tuberculosis control physicians in two separate state health departments expressed concerns about the inclusion of the sentence, "Microorganisms .....may be dispersed over long distances by air currents and may be inhaled by susceptible individuals who have not had face-to-face contact with (or been in close proximity to) the infectious animal or person (Siegel 2007). The likelihood of a person (or animal) to inhale a sufficient dose of *Mycobacterium tuberculosis* carried by wind currents in an outdoor space, or semi-open well ventilated enclosure is deemed to have extremely rare potential for an exposure to occur. This description in the Guidelines needs to qualify that airborne transmission can occur in closed spaces with a shared ventilation system that may communicate with animal areas and areas housing or officing personnel. The Siegel reference is describing airborne transmission in an enclosed area, not one that is ventilated to outside air.

2) Definition of public contact: The current definition, i.e., "any situation", is too broad to be applied for the purposes of classifying potential human exposures and managing risk of zoonotic transmission. We request that the definition be modified to reflect what is known about zoonotic transmission rather than to be ultra-conservative and cause unwarranted fear or concerns. What is known is that the greatest risk of spread of *M. tuberculosis* from an infectious elephant to a human requires frequent exposures within close proximity to an infectious elephant, or sharing of a common airspace in an enclosed area under conditions of repetitive aerosolization of droplet nuclei (reported in EID 2011;17:366-371). Brief, incidental contact in or around an infected elephant would not likely result in an exposure; nor would just touching an elephant. The scientific evidence for fomite transmission to a person also needs to be presented if included in this definition as a potential route of exposure.

Page 2  
 NASPHV, June 28, 2012

Similar to what is provided in section #13, we suggest added language in the definition of public contact that states something on the order of: "Consult with the State Public Health Veterinarian or State Epidemiologist in your state to obtain guidance regarding the public health risks an infected elephant may pose to the general public as the particular circumstances involving a TB-infected elephant are variable."

3) Page 10, Group 2: Request adding more detail on what is defined as "cessation of exposure". For previously culture and STAT-PAK negative elephants in a herd with a culture positive elephant undergoing treatment, we assume exposure cessation has occurred six months after the TB-infected elephant has been undergoing approved anti-tuberculosis treatment, or six months following effective isolation of the TB-infected elephant, or six months following removal of the TB-infected elephant from the premises. If the subcommittee is in agreement with these parameters, they need to be clearly stated in the Guidelines.

What is the basis for the added 6 month travel/public contact restriction (as compared to 2010 Guidelines) for elephants in Group 2? This restriction seems appropriate for travel that would involve change in ownership, i.e., relocation to a new facility/herd, but seems unnecessary for performing elephants. Since *M. tuberculosis* has a latency period, and travelling elephants do not typically commingle with those outside of their herd or come into frequent direct contact with the public, this addition appears to be over restrictive and should be more granular (and science-based) to types of travel. Elephants in this group would be very unlikely to pose a risk of zoonotic transmission to the general public.

4) Request insertion of a small paragraph towards the end of Section #7, TB Management Groups 1-4 (page 15): NASPHV requests consideration of some added language to the Guidelines that addresses working with local and/or state public health officials in assessing public health and occupational health risks associated with a particular elephant. Proposed language -- "Facilities who maintain elephants falling into Groups 2-4 should be prepared to share information, including but not limited to, employee TB status and TB risk factors, elephant medical history, elephant housing and activities with public health officials in order to assist in any assessment or contact investigation associated with the public health risk of an elephant(s).

5) Page 17, section #3, Group 4 elephants: This section is written from the perspective that the STAT-PAK and MAPIA tests are 100% sensitive and specific for elephants that are infected with *M. tuberculosis*. We know of elephants that have been *M. tb* culture positive, but negative upon subsequent and repeated STAT-PAK and MAPIA testing. This needs to be addressed for Group 4 elephants. It is an unnecessary expense to the elephant owner to continue to require the serological testing once it is well demonstrated that the individual culture positive animal is non-reactive on these tests, and the MAPIA test will have no value in assessing successful treatment status or recrudescence of infection.

6) Page 18, Section B, Quarantine without treatment: We recognize there is limited data available on the "*M. tb* elephant-to-elephant transmission range" whether by aerosol transmission or theoretical fomite transmission; however, USDA in collaboration with USAHA must develop a beginning standard distance between a culture positive elephant and other

Page 3  
NASPHV, June 28, 2012

elephants for these guidelines to be operational. Simply stating, "Quarantined elephants should be kept out of range from non-infected animals..." is insufficient. Would 100+ yards (> 300 feet) be considered "out of range", > 150 yards?

7) Page 18, Section C, Euthanasia: Suggest clarifying "...showing clinical signs.... Consider changing to .....showing clinical signs of progressive and active tuberculosis disease.

8) Page 21, 23, 25: Terms  $C_{max}$  and  $T_{max}$  are used in the pharmacology sections, but are not defined in Section 2 – Definitions. Suggest adding to definitions before citing in Guidelines.

9) Page 26, Section 12, Postmortem Examination: "It is essential that a post-mortem examination be performed on all elephants that die." Our reviewers requested clarification – does this refer to all elephants regardless of Group 1-4 status, or just elephants that die while being treated for tuberculosis?

10) Page 28, Section 14, Reporting: Although we are in agreement that all positive *M. tb* culture results in elephants should be reported to the State Veterinarian and State Health Department, it is not a correct statement in the Guidelines to simply state, "Tuberculosis is a reportable disease." Disease reporting laws are determined by the individual states. We know that in some states only tuberculosis in livestock animals is required to be reported to the State Veterinarian. Since elephants are not livestock, they are not captured by this reporting requirement in many states. Tuberculosis in humans is reportable to the respective state health department; however, very few states have disease reporting laws that require reporting of tuberculosis in animals to the public health agency. Based on discussions that occurred at a national stakeholders meeting in Fort Worth, TX, in August 2011, there appears to be a misunderstanding among USDA and other elephant-centered organizations about this existing gap in reporting of tuberculosis in elephants.

List of Minor Edits (typographical, formatting, etc.)

Page 3, first paragraph: remove space from NASPHV reference

Page 3, Culture positive contact: ...for *M. tb* (insert space, add "b") complex

Page 5, *M. tb* and *M. tb* complex: Add space between *M* and *tb*

Page 11, bulleted footnote under Group 2: Remove bullet; appropriately place footnote – seems out of place and a little difficult to put into context.

Page 11- 14, Follow-up status for Group 2 Elephants after Testing: Reformat – missing "g" at end of testing; all "p" s translating strange in other versions of Microsoft Word

Page 15, second paragraph: Several words have inappropriate spaces, e.g., "levofloxaci n", "IN H". This may be simply a problem with the draft version that is being circulated, but check master copy. Similar problem with "Isoni azid" in third paragraph on page 16.

Page 19, last paragraph: Spacing problem again with "pyrazi namide" and "fl uoroqui nolones"

Page 23, Pharmacokinetics: Paragraph is represented as bolded in received draft version. Remove bolding.

Page 4  
NASPHV, June 28, 2012

Thank you for your thoughtful consideration of NASPHV review and input into the Guidelines. If you have any questions pertaining to our comments, please contact me by phone at 405.271.7637 or by Email at [Kristyb@health.ok.gov](mailto:Kristyb@health.ok.gov).

Sincerely,



Kristy Bradley, DVM, MPH, DACVPM  
Vice President, National Association of State Public Health Veterinarians  
Office of the State Epidemiologist  
Oklahoma State Department of Health  
1000 NE Tenth Street, Room 606  
Oklahoma City, OK 73117



**Apêndice 6.**

Exemplo de CVI da AAZV preenchido para 2 elefantes asiáticos adultos com histórico de 2 anos de LT incluído.

**AMERICAN ASSOCIATION of ZOO VETERINARIANS**  
**STANDARD CERTIFICATE OF VETERINARY INSPECTION**      No: 99292

OWNER: *Bob's Elephant Ranch*      CONSIGNEE: *Joe's Elephant Land*      DATE ISSUED: *01/01/2016*  
 ADDRESS: *1234 Anywhere Ave*      ADDRESS: *345 Elephantopia Lane*      Mode of Transport:  Land     Air     Sea  
*Meinhardt, AK*      *Elephant Valley, LA*      NAME OF AGENT: \_\_\_\_\_  
 PHONE: *(123) 123-4567*      PHONE: *(314) 123-3456*

ANIMAL ID. Tattoo Brand Tag Etc.	NAME Common Scientific	PHYSICAL DESCRIPTION Age Sex Weight Other	HISTORY Date of Vaccination including name of product used Date of last deworming including name of product used Housed with... other animals Recent health problems with similar or adjacent species Dose name and dosage of all drugs given prior to or during transport (including antibiotics, analgesic or immobilizing drugs) Tuberculin listed and Dosage <input type="checkbox"/> Intradermal (old tuberculin) <input type="checkbox"/> PPD <input type="checkbox"/> Neg <input type="checkbox"/> Suspicious <input type="checkbox"/> Bovine PPD      result: <input type="checkbox"/> Positive <input type="checkbox"/> Negative EIA results for Equine      Test status: _____ Anticoagulate used for Heparinates      Results: _____
<i>Tumbo</i>	<i>Asian Elephant Elephas maximus</i>	<i>42 years old Female 8500 lbs.</i>	Method of Examination <input type="checkbox"/> Visual <input checked="" type="checkbox"/> Physical <i>Tumbo - NTB Category A -</i> <i>Traumatic history</i> <i>Tuple TUW Jan 3-5, 2015, Lab: NVSL, Results: Neg</i> <i>Tuple TUW May 15-17, 2014, Lab: NVSL, Results: Neg</i> <i>Mabel - MIB Category A</i> <i>Tuple TUW Jan 3-5, 2015, Lab: NVSL, Results: Neg</i> <i>Tuple TUW May 15-17, 2014, Lab: NVSL, Results: Neg</i>
<i>Mabel</i>	<i>Asian Elephant Elephas maximus</i>	<i>42 years old Female 7700 lbs.</i>	

Permit Obtained if Required    Yes     No

I certify as an authorized veterinarian, that the above described species have been inspected by me and that they are not animals kept in violation, captivity, or other inappropriate disease based enclosure. The conditions are provided as outlined on the back of this certificate. In the case of any discrepancy, the certificate issued on the date of inspection and under my signature is the only one that is valid.

Signature: *Joe Zon*      DVM      National Vet. Accreditation Prog. ID: *1234*  
 Printed Name: *Joe Zon Vet*      State Veterinary License No: *1235 AK*  
 Approved by: *John State Vet*      State Veterinarian      State Permit No. (if Applicable): *1234*  
 AAZV Member     Non Member

Standard Printing 1/2013 - Rev. 07/12      OMB APPROVAL STATEMENT: This document is as certified to and listed on this certificate.

**Apêndice 7. Participantes**

**PRIORIDADES DE MANEJO E PESQUISA DE TUBERCULOSE EM ELEFANTES  
SOB CUIDADOS HUMANOS – FORÇA TAREFA**

**IT WAS NOT POSSIBLE TO IMPORT THE TABLE FROM THE PDF, IF AAZV CAN  
ADD IT HERE FROM THE ORIGINAL .DOCX...**