

SURTO DE MICOBACTERIOSE EM CRIAÇÃO DE RÃS (*Rana catesbeiana*) CAUSADO POR *Mycobacterium marinum*¹

GLÊNIO CAVALCANTI DE BARROS², CHARLOTTE HUBINGER LANGENEGGER³,
JEROME LANGENEGGER³ e PAULO VARGAS PEIXOTO³

ABSTRACT.- Barros G.C., Langenegger C.H., Langenegger J. & Peixoto P.V. 1988. [**Outbreak of mycobacteriosis in a frogery caused by *Mycobacterium marinum*.**] Surto de micobacteriose em criação de rãs (*Rana catesbeiana*) causado por *Mycobacterium marinum*. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 8(3/4):75-80. Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851, Brazil.

An outbreak of mycobacteriosis (tuberculosis) caused by *Mycobacterium marinum* in a colony of *Rana catesbeiana* in the State of Rio de Janeiro is described. The disease was introduced in the frogery by infected animals and, in 3 months, about 50% of 160 animals became contaminated and died. The sick frogs had shown clinically progressive anorexia, apathy, adynamia, having the head lowered and lost weight with the evolution of the disease. The necropsy had shown nodular whitish caseous lesions in livers, spleens, kidneys, rarely in lungs, with variable number and size of the nodules. Microscopically, the lesions were characterized as granulomas in different evolutioning stages. These had origin in epithelioid cell agglomerations which became caseous necrosis later. The so initiated nodules were surrounded by some macrophage cells and by concentric connective tissue layers, limiting the nodules themselves and from the normal adjacent organ tissues. A great number of isolated or aggregated acid-fast bacteria was seen scattered in the nodule structure. The identification of *M. marinum* was based on the cultural and biochemical behaviour, with special regard to the photochromogenicity.

INDEX TERMS: Mycobacteriosis, *Mycobacterium marinum*, frog, outbreak.

SINOPSE.- Foi descrito um surto de micobacteriose causado por *Mycobacterium marinum* numa criação de rãs da espécie *Rana catesbeiana* no Estado do Rio de Janeiro. A doença foi introduzida no ranário através da compra de rãs infectadas e propagou-se em 3 meses a cerca de 50% das rãs de um lote de 160 animais que adoeceram e morreram.

Clinicamente as rãs doentes demonstravam progressiva anorexia, apatia, adinamia e postura cabisbaixa, perdendo peso a medida que a doença evoluía. A necropsia revelou lesões nodulares caseosas de cor esbranquiçada no fígado, baço e rins, raramente nos pulmões, variando o número e tamanho dos nódulos. Microscopicamente as lesões eram constituídas por granulomas, em vários estágios de evolução. Estes iniciavam-se por aglomerados de células epitelióides que posteriormente eram levados a necrose por caseificação. Os nódulos assim formados eram envoltos por alguns macrófagos e por camadas concêntricas de tecido conjuntivo que delimitavam os nódulos entre si e do tecido normal adjacente do órgão. Grande número de bastonetes isolados ou formando agregados bacterianos, álcool-ácido resistentes, encontravam-se entre as estruturas do nódulo.

A identificação de *M. marinum* baseou-se no comportamento cultural e bioquímico, destacando-se a fotocromogenicidade.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Micobacteriose, *Mycobacterium marinum*, rã, surto.

INTRODUÇÃO

A rã, como vários outros animais de sangue frio, é vítima de infecções espontâneas por micobactérias cujo quadro clínico e anátomo-histológico lembra o da tuberculose. Esta descoberta remonta ao início do século quando Küster (1905) e Rupperecht (1904), na Alemanha, relataram sobre a ocorrência de casos espontâneos de "tuberculose" em rãs da espécie *Rana temporaria*. A micobacteriose caracterizou-se por lesões granulomatosas do fígado contendo grande número de bastonetes álcool-ácido resistentes. O agente causal crescia bem na temperatura de 28 - 30°C e se parecia com *Mycobacterium tuberculosis*. Na ocasião foi designado genericamente como bacilo da tuberculose dos animais de sangue frio. Posteriormente Bergey et al. (1923) reconheceu a micobactéria por *M. ranæ*. A inoculação desta cultura em outras rãs e alguns animais de sangue frio reproduziu a doença com lesões hepáticas e pulmonares, mas não mostrou-se patogênica para coelhos, cobaios, ratos e camundongos.

¹ Aceito para publicação em 18 de dezembro de 1987.

Trabalho realizado na Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e na Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA), Embrapa, Seropédica, Rio de Janeiro.

² Depto Med. Prev. Epidemiologia, UFRRJ, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

³ Embrapa-UAPNPSA, Km 47, Seropédica, RJ 23851.

Vários anos após, Lichtenstein (1920) descreveu outro caso espontâneo de micobacteriose em uma rã, presumivelmente também da espécie *Rana temporaria* (Elkan 1960) de cujas lesões hepáticas foi isolada cultura pura da micobactéria tida então como bacilo da tuberculose da rã. Esta cultura se comportava como a descrita por Küster (1905).

Griffith (1930) também descreveu uma micobacteriose em rãs da espécie *Pseudis paradoxa* portadoras de lesões semelhantes às da tuberculose no fígado. A micobactéria isolada distinguia-se sorologicamente de *M. piscium* (Bataillon et al. 1987), de *M. chelonii* (Friedmann 1903) e de *M. marinum* (Aronson 1926) estas procedentes de peixes e quelônios.

Darzens (1950-52) descreveu uma epizootia de micobacteriose (tuberculose) em rãs da espécie *Leptodactylus pentadactylus*, conhecidas no Estado da Bahia por "gias". Verificou-se que todas as 60 rãs capturadas em poços e bicas d'água de 4 locais diferentes de subúrbios da cidade de Salvador eram portadores de lesões macro e/ou microscópicas, de aspecto nodular, de cor branco-amareladas, em maior ou menor número, afetando principalmente o fígado, mas também os pulmões, o peritônio, o intestino e em alguns casos as mesmas lesões estavam localizadas nas articulações dos membros. As lesões iniciais eram formadas por células mononucleares e histiócitos envoltos por delgada cápsula de tecido conjuntivo fibroso. Nas lesões mais evoluídas o centro do nódulo se transformava em massa caseosa e a periferia em densas camadas concêntricas de tecido conjuntivo, separando nitidamente os nódulos entre si ou estes do tecido normal dos órgãos. O autor chamou a atenção pela ausência de células gigantes de Langhans. Nas lesões foram encontradas numerosas bactérias em forma de bastonetes com acentuada álcool-ácido resistência. As micobactérias isoladas apresentavam características bioquímicas semelhantes às de *M. ranæ*, mas como diferiam um pouco em alguns aspectos morfológicos, tintoriais e culturais, o autor propôs o nome de *M. giae*.

Mais recentemente, Schwabacher (1959) assinalou a presença de lesões tuberculoides em sapo da espécie *Xenopus laevis*, localizadas na pele. A infecção manifestou-se por múltiplas formações granulomatosas envolvendo mais a porção superficial do derma. Histologicamente estas lesões eram constituídas por massas densas de células endotelióides, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares, entremeadas por amontoados de bastonetes álcool-ácido resistentes. A micobactéria isolada, que no meio de cultura de Loewenstein-Jensen revelou colônias lisas, úmidas, semelhantes às de *M. avium*, apresentou comportamento bioquímico diferente das micobactérias atípicas conhecidas, o que levou a autora a denominá-la de *M. xenopi*.

Elkan (1960) relatou também um caso de "tuberculose" em sapo da espécie *Xenopus laevis* com lesões nodulares apenas no rim. Em dois sapos da espécie *Bufo bufo* o mesmo autor encontrou lesões tuberculoides no fígado,

gado, baço, rim, nos pulmões, intestinos e testículos que considerava como tuberculose miliar. Nas lesões foi visto grande número de micobactérias, mas não se refere ao isolamento e identificação destas.

No presente trabalho descreveu-se a ocorrência de um surto de micobacteriose em rãs de uma criação industrial, causada por *M. marinum*, cujo achado ainda não havia sido registrado na literatura e que assume importância também pelos aspectos sanitários e econômicos para a aquicultura.

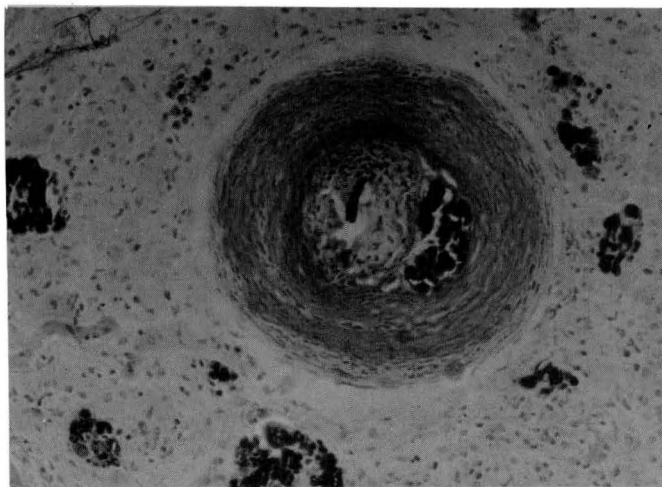
MATERIAL E MÉTODOS

Numa criação comercial de rãs da espécie *Rana castesbeiana*, conhecida vulgarmente por rã-touro (Bullfrog) localizada no Estado do Rio de Janeiro, foram adquiridas 60 novas rãs e colocadas juntas com um lote de 100 já existente. Cerca de 3 semanas após começou a ocorrer alta mortalidade de animais. Foi feita uma visita à propriedade para levantamento do histórico da doença e das condições higiênico-sanitárias do ranário. Na ocasião foram colhidas 22 rãs doentes ou recém-mortas para exames clínico, anátomo-histopatológico e bacteriológico. Fragmentos de órgãos lesados foram fixados em solução de formol a 10% e os cortes histológicos corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina (HE), de Ziehl-Neelsen (ZN), de Fontana, de Perl e de Turnbull. Esfregaços dos órgãos lesados foram corados pelas técnicas de Gram e de Ziehl-Neelsen. O triturado dos órgãos foi semeado, diretamente, em meios simples e enriquecidos e, após descontaminação em solução a 6% de ácido sulfúrico, em meio de Loewenstein-Jensen, com e sem glicerina, bem como com e sem aeração. A incubação foi feita a 30 e 37°C, durante 30 dias e acompanhada por duas inspeções semanais. A identificação do agente etiológico baseou-se na morfologia e propriedades tintoriais do germe, nos aspectos culturais das colônias segundo a classificação de Runyon (1959) e nas propriedades bioquímicas das micobactérias isoladas. A caracterização bioquímica foi realizada pelas provas descritas por Langenegger et al. (1973).

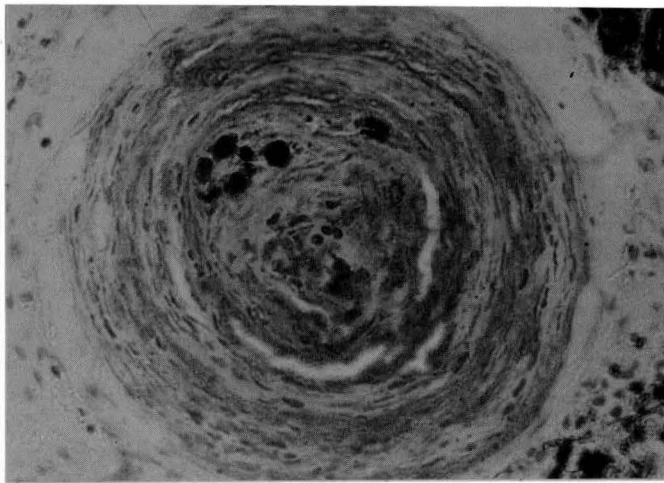
RESULTADOS

A doença incidiu em cerca de 50% do lote de 160 rãs adquiridas recentemente, manifestando-se por progressiva apatia, adinamia e redução do apetite dos animais e, conseqüentemente perda de peso ou retardamento do crescimento. Na fase final da doença, as rãs permaneciam paradas, cabisbaixas. A enfermidade evoluiu progressivamente para a morte. Após terem morrido cerca de 50% dos animais, o proprietário sacrificou o restante do lote.

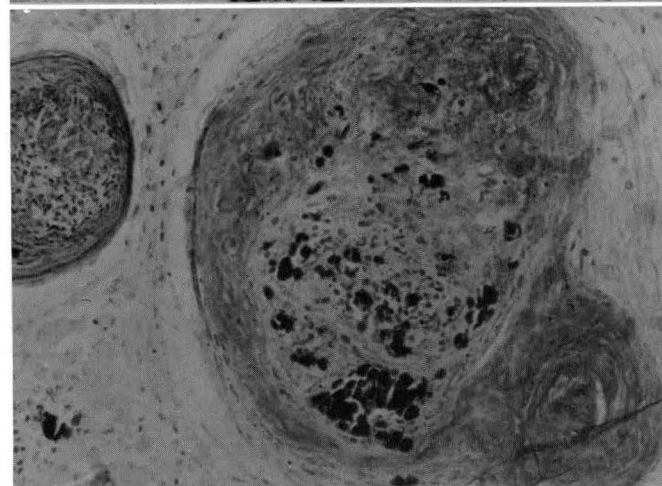
A necrópsia de 22 rãs que morreram vítimas da doença ou foram sacrificadas quando já doentes, revelou em todos os animais a presença de lesões nodulares caseosas de cor esbranquiçada no fígado, no baço e nos rins e mais raramente nos pulmões, variando o número e o tamanho destas. Os nódulos, cujo tamanho oscilava desde o de cabeça de alfinete até 4mm de diâmetro, encontravam-se difusamente disseminado nos rins, no baço e no fígado e sob as serosas do coração e dos pulmões. Nódulos maiores deformavam os órgãos e ao corte apresentavam um conteúdo caseoso bem delimitado do tecido normal por



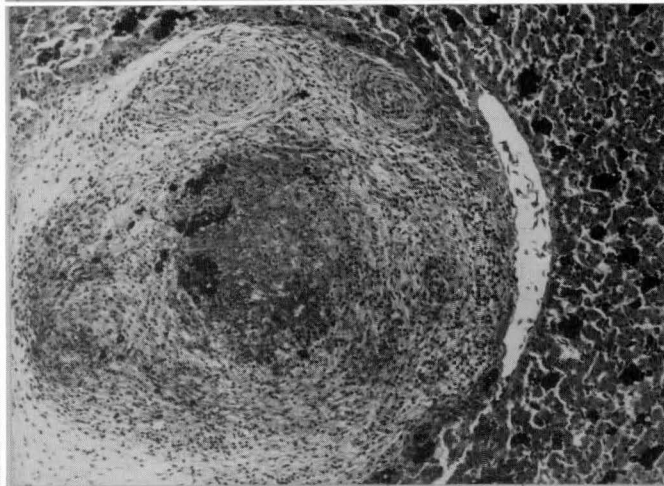
1



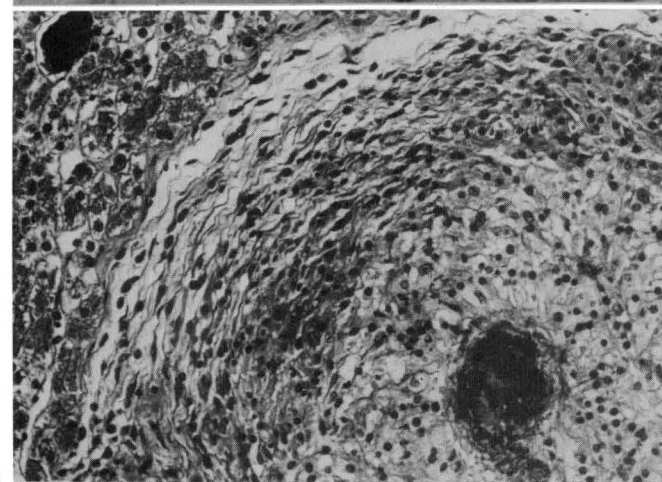
2



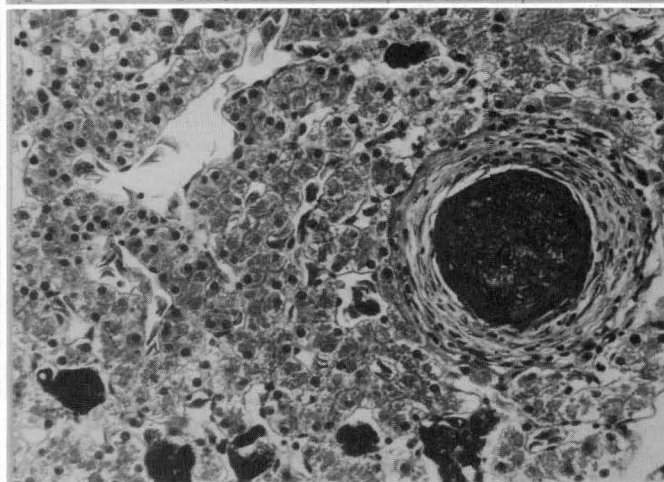
3



4



5



6

Fig. 1. *Nódulos concêntricos no fígado de rã, Rana catesbeiana, revelando densas massas de Mycobacterium marinum, álcool-ácido resistentes. ZN, obj. 10*

Fig. 3. *Nódulos no fígado de rã de vários tamanhos e em coalescência, mostrando alta concentração de M. marinum nos granulomas. ZN, obj. 10.*

Fig. 5. *Tubérculo inicial formado por macrófagos epitelióides com citoplasma esponjoso no fígado de rã. HE, obj. 16.*

Fig. 2. *Nódulo no fígado de rã demonstrando aglomerados de M. marinum nos restos celulares centrais e entre as camadas concêntricas periféricas. ZN, obj. 20.*

Fig. 4. *Coalescência de varios tubérculos num grande nódulo bem delimitado pelo tecido hepático normal. HE, obj. 6.*

Fig. 6. *Granuloma com reação discreta contendo massa de restos celulares no fígado de rã. HE, obj. 16.*

uma fina cápsula conjuntiva. O material caseoso não causava rangido ao corte e a bacterioscopia de esfregaço corados pelo método de Gram e Ziehl-Neelsen do material triturado revelou apenas a presença de bastonetes e cocobastonetes, álcool-ácido resistentes, intensamente corados pela fucsina.

Histologicamente, os nódulos revelaram-se como granulomas em vários estágios de desenvolvimento, que, portanto, diferiam morfológicamente entre si. Os tubérculos menores eram formados por aglomerados de macrófagos epitelióides com abundante citoplasma de aspecto esponjoso ou granular e bordos indistintos (Fig. 5). Estes acúmulos de macrófagos epitelióides eram envolvidos por finas lâminas concêntricas de fibrócitos e colágeno, que às vezes eram entremeados por raros linfócitos, plasmócitos e heterófilos. Outros granulomas apresentavam-se com massa de restos celulares, também arranjadas concêntricamente em lâminas, envolvida externamente por faixas de tecido conjuntivo, de espessura variável (Fig. 6). Estágios intermediários entre estas duas formas também eram vistos, nos quais a massa de detritos celulares era envolvida por um manto de macrófagos epitelióides, circundados por faixa de tecido conjuntivo. Mais raramente alguns granulomas maiores constituíam-se por simples massas caseosas amorfas, delimitadas por tecido conjuntivo. Calcificação distrófica foi raramente observada, porém os granulomas, com frequência, continham variáveis quantidades de melanina. Coalescência de granulomas ocorreu eventualmente (Fig. 3 e 4). Pela coloração de Ziehl-Neelsen encontravam-se no centro e entre as lâminas de restos celulares, grande número de bastonetes corados pela fucsina (Fig. 1 e 2).

As sementeiras do triturado dos órgãos lesados, diretamente, em meios para rotina de diagnóstico não revelaram crescimento de microrganismos em 24 e 48 horas. O mesmo triturado depois de descontaminado e semeado em meio de Loewenstein-Jensen, revelou crescimento de grande número de colônias visíveis, a partir do 7º dia de incubação a 30°C. Posteriormente também houve crescimento a 37°C. Repiques das culturas, quando incubadas no escuro, apresentavam-se acromáticas, no entanto, as mesmas tornavam-se pigmentadas de amarelo vivo à alaranjado quando expostas à luz, caracterizando-se assim como fotocromogênicas pertencentes ao grupo I de Runyon (1959).

A caracterização bioquímica das culturas isoladas revelou que as provas da catalase à temperatura ambiente e a 68°C foram positivas, não havendo redução do nitrato, mas sim desdobramento da uréia e lenta hidrólise do Tween 80. O Quadro 1 reúne os resultados das provas realizadas.

Quadro 1. Características culturais e bioquímicas do agente causal, *Mycobacterium marinum*, isolado das lesões granulomatosas de *Rana catesbeiana*

Crescimento	Fotocromogênicidade		Catalase		Nitrato redutase (4 horas)	Hidrólise de Tween 80 (10 dias)	Urease
	30°C	37°C	28°C	68°C			
Dias	30°C	37°C					
8	+	±	+	+	-	+	+

A soma dos resultados acima descritos permitiu identificar o agente causal como *Mycobacterium marinum* e a doença como micobacteriose da rã.

DISCUSSÃO

Analisando-se os resultados das pesquisas já feitas sobre a chamada "tuberculose" dos anfíbios, verifica-se, sob o ponto de vista anátomo-patológico, que ocorrem duas formas distintas de micobacterioses, a visceral e a cutânea. A infecção visceral se caracteriza por múltiplos granulomas, variando em número e em tamanho, disseminados no fígado, baço, nos rins, pulmões, mais raramente no peritônio, intestino, e nos testículos. Esta forma visceral foi assinalada na rã européia *Rana temporaria* (Küster 1905, Lichtenstein 1920), na rã *Pseudis paradoxis* (Griffith 1930), na rã *Leptodactylus pentadactylus* (Darzins 1950/52) e agora pelos autores na rã comercialmente explorada, *Rana catesbeiana*. A forma visceral também foi descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* e *Bufo bufo* (Elkan 1960, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965).

A micobacteriose cutânea descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* (Schwabacher 1959, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965) caracterizou-se pela formação de nódulos que se desenvolviam na pele, envolvendo inicialmente mais a porção superficial do derma e posteriormente também as camadas mais profundas. Estes nódulos tendiam a multiplicar-se cobrindo áreas adjacentes e ulceravam quando atingiam tamanhos maiores. Histologicamente consistiam de massas de células endotelióides, macrófagos, linfócitos e polimorfonucleares com pouco tecido colágeno, entremeado por numerosos amontoados de bastonetes álcool-ácido resistentes.

Analisando-se os achados macro e microscópicos do surto ora descrito em *Rana catesbeiana* estes caracterizam uma micobacteriose e assemelham-se bastante ao que tem sido relatado na literatura para esta doença em anfíbios.

A estrutura e a composição celular dos granulomas são praticamente as mesmas observadas por Darzins (1950/52) na epizootia de tuberculose em *Leptodactylus pentadactylus*. Reichenbach-Klinke & Elkan (1965) mencionam que a presença de células gigantes é muito rara nos granulomas e que a caseificação central é usualmente pouco pronunciada, o que foi por nós também constatado no presente surto. No entanto, Darzins (1950, 1952) e Reichenbach-Klinke & Elkan (1965) não se referem à presença de heterófilos nas lesões. Embora em pequeno número, estas células por vezes estavam presentes em meio aos granulomas no presente surto, o que também foi constatado por Schwabacher (1959) em lesões tuberculoides na pele de sapos *Xenopus laevis*, causadas por *M. xenopi*. Presença de melanina nas células dos túbulos contornados do rim tem sido descritas em casos de micobacteriose em sapos (Reichenbach-Klinke & Elkan 1965). A destruição de grandes áreas do parênquima hepático levaria à liberação da melanina, af armazenada, para a corrente sanguínea com subsequente eliminação pe-

los rins. Muitos dos animais por nós examinados portavam avançadas lesões hepáticas, mas não foi encontrado este pigmento nas células dos túbulos renais de nenhum dos animais.

A presença da melanina no parênquima hepático e nas lesões tuberculoides foi comprovada pela coloração de Fontana e sua liberação através da oxidação com peróxido de hidrogênio. As colorações de Perl e Turnbull revelaram pequena quantidade de hemossiderina que não tem significado patológico.

Quanto à etiologia, a forma da chamada "tuberculose" visceral é causada por *Mycobacterium fortuitum*. A nomenclatura do(s) agente(s) etiológico(s) da "tuberculose" dos anfíbios passou por várias propostas. Inicialmente a micobactéria isolada por Küster (1905) foi denominada, genericamente, por bacilo da tuberculose dos animais de sangue frio. Em 1923, ela foi designada por *M. ranae* no Manual de Bergey (1923). Cruz (1938), ao reestudar as micobactérias do grupo, demonstrou a identidade de *M. ranae* com *M. fortuitum*, prevalecendo então o nome desta e *M. ranae* ficou como sinônimo. Mais recentemente, Stanford & Gunthorpe (1969) reanalisando culturas de *M. ranae* e *M. giae* (1950/52) também concluíram que estas eram idênticas a *M. fortuitum*. Cultural e bioquimicamente, *M. fortuitum* se caracteriza pelo crescimento rápido, em 3 a 4 dias, por ser acromogênico, por reduzir nitrato e se enquadrar no grupo 4 de Runyon (1959).

O surto de micobacteriose visceral, descrito no presente trabalho, foi causado por *M. marinum* e parece ser o primeiro registro desta infecção em rãs. Esta micobactéria, no entanto, foi identificada como agente causal da tuberculose de peixes (Aronson 1926, Giavenni et al. 1980, Hoffmann et al. 1983). *M. marinum* se distingue cultural e bioquimicamente de *M. fortuitum* por ser de crescimento mais lento (7 a 8 dias), por ser fotocromogênico, por não reduzir nitrato, e pertencer ao grupo 1 de Runyon (1959).

A micobacteriose cutânea descrita em sapos da espécie *Xenopus laevis* (Schwabacher 1959, Reichenbach-Klinke & Elkan 1965) foi causada por *M. xenopi* que se distingue das duas espécies acima referidas por ser de crescimento lento (30 dias), por ser escotocromogênica, não reduz nitrato e se enquadra no grupo 3 de Runyon (1959).

A existência de outras micobactérias responsáveis por infecções espontâneas de anfíbios não pode ser excluída. Não foi possível consultar o trabalho original de Griffith (1930) e de outros autores citados por Vogel (1958) e por Reichenbach-Klinke & Elkan (1965). Elkan (1960) descreveu a micobacteriose de sapos em seus aspectos anátomo e histopatológico, mas não se referiu ao isolamento e identificação do agente causal.

Sob o ponto de vista epizootiológico, chamou a atenção que a ocorrência das micobacterioses em anfíbios foi assinalada em animais mantidos em cativeiro e o número de infecções nestes foi pequeno a julgar pelo relato de

Küster (1905) que de 200 rãs examinadas encontrou apenas 3 casos e Lichtenstein (1920) que observou apenas 1 dentro de 140.

Contrastando esta informação, Darzins (1950, 1952), em Salvador, na Bahia, deparou-se com verdadeira enzootia, pois das 60 rãs silvestres examinadas todas estavam infectadas.

No surto por nós descrito numa criação comercial, a infecção propagou-se no lote a partir da introdução de rãs oriundas de outro ranário. Este achado deve servir de alerta para o perigo que representa a aquisição e introdução de rãs de outras procedências. Precauções também devem ser tomadas para evitar a entrada de rãs silvestres nas criações comerciais, bem como para a origem da água a ser utilizada no ranário, pois esta pode vir contaminada por *M. fortuitum* e *M. marinum*.

Finalmente, sob o ponto de vista da saúde pública, cumpre assinalar que os dois agentes acima mencionados podem aproveitar-se de soluções de continuidade da pele ou da mucosa do homem e causar infecções ulcerativas de evolução crônica e de tratamento renitente.

Agradecimentos.- Os autores agradecem ao Prof. Dr. José Felipe Ribeiro Amato pelo interesse demonstrado em ver esclarecida a causa da doença das rãs, bem como pela sua prestima colaboração na confecção de cortes histológicos e de microfotografias em cores.

REFERÊNCIAS

- Aronson J.D. 1926. Spontaneous tuberculosis in salt water fish. J. Infect. Dis. 39:315-320.
- Bataillon E., Dubard P. & Terre L. 1897. Un nouveau type de tuberculose. Compt. Rend. Soc. Biol. 49:446-449.
- Bergey D.H., Harrison F.C., Breed R.S., Hammer B.W. & Huntoon F.M. 1923. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Williams & Wilkins, Baltimore, p. 375-376.
- Cruz J.C. 1938. *Mycobacterium fortuitum* um novo bacilo ácido resistente patogênico para o homem. Acta Med., Rio de J., 1:297-301.
- Darzins E. 1950. Tuberculose das Gias. Archs Inst. Bras. Invest. Tubercul. 9:29-37.
- Darzins E. 1952. The epizootic of tuberculosis among the Gias in Bahia. Acta Tuberc. Scand. 26:170-174, and 3 figures.
- Elkan E. 1960. Some interesting pathological cases in amphibians. Proc. Zoot. Soc., London, 134:275-295.
- Friedmann F.F. 1903. Spontane Lungentuberkulose mit grosser Kaverne bei einer Wasserschildkroete (*Chelone corticata*). Dtsch. Med. Wschr. 29:25-29.
- Giavenni R., Finazzi M., Poli G. & Grimaldi E. 1980. Tuberculosis in marine tropical fishes in an aquarium. Wildlife Dis. 16(2):161-168.
- Griffith A.S. 1930. Tuberculosis in cold-blooded animals, p. 326-332. In: A System of Bacteriology. Med. Res. Council, London. (Citado por Vogel 1958)
- Hoffmann R., Graaff S., Burg G. 1983. Verbreitung der Tuberculose bei Zierfischen. Tierärztl. Praxis 11:261-267.
- Küster E. 1905. Über Kaltblütertuberkulose. Münch. Med. Wschr. 52:57-59.
- Langenegger C.H., Menke L.G. & Langenegger J. 1973. Micobactérias isoladas de lesões tuberculoides de linfonodos cervicais de suínos no Paraná. Pesq. Agropec. Bras., Sér. Vet. 8:53-59.
- Lichtenstein S. 1920. Ein Fall von spontaner Froschtuberkulose. Centralbl. Bakt. Parasitol., 1 Abt. Orig., 85:249-252.
- Reichenbach-Klinke H. & Elkan E. 1965. The principal diseases of lower vertebrates. Book II, Diseases of Amphibians. T.F.H. Publications.

- Runyon E.H. 1959. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. *Med. Clin. North Amer.* 43:273-290.
- Rupprecht J. 1904. Über säurefeste Bazillen nebst Beschreibung eines Falles von spontaner Froschtuberkulose. Inaug. Diss., Freiburg. (Citado por Küster 1905)
- Schwabacher H. 1959. A strain of mycobacterium isolated from skin lesions of a cold-blooded animal, *Xenopus laevis*, and its relation to atypical acid-fast bacilli occurring in man. *J. Hyg.* 57:57-67.
- Stanford J.L. & Gunthorpe W.J. 1969. Sorological and bacteriological investigation of *Mycobacterium ranae* (*fortuitum*). *J. Bacteriol.* 98:375-383.
- Vogel H. 1958. Mycobacteria from cold-blooded animals. *Am. Rev. Tuberc.* 77:823-838.