

Epidemiologia do Complexo *Mycobacterium avium* em mamíferos selvagens em Portugal. Uma abordagem molecular

Matos AC^{1,2}, Morais M³, Dias AP³, Figueira L², Martins MH², Santos MP^{4*}, Pinto ML^{1,3}, Coelho AC^{1,3}, Matos M⁴

¹CECAV, Centro de Ciência Animal e Veterinária, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal

²Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal

³Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, UTAD, Quinta de Prados, 5000-801 Vila Real, Portugal,

⁴Departamento de Genética e Biotecnologia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal

*Autor correspondente: lene.santos18@hotmail.com

INTRODUÇÃO

O Complexo *Mycobacterium avium* (MAC) compreende um grupo de micobactérias de crescimento lento que embora sejam ubiqüitárias no ambiente, são causa de grande número de infeções em animais selvagens, domésticos, aves e indivíduos imunodeprimidos.

Contudo, a epidemiologia dos agentes pertencentes a este complexo ainda é fracamente compreendida e pouco se sabe do estatuto sanitário dos animais domésticos e selvagens em Portugal e na Europa.

Neste trabalho efetuou-se um estudo epidemiológico através de técnicas moleculares com o objetivo de deteção do complexo em mamíferos selvagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Efetuaram-se exames *post mortem* tendo-se colhido amostras de tecidos de mamíferos selvagens num total de 283 animais.

Realizou-se a extração de DNA a partir de tecidos através do “kit” comercial “DNeasy Blood & Tissue Kit” (Qiagen®, Hilden, Germany) de acordo com as instruções do fabricante (Fig. 1).



Figura 1-Extração de DNA diretamente de amostras de tecidos

Os tecidos foram rastreados para o género *Mycobacterium* por uma reação de amplificação PCR 16S rDNA modificada (Moravkova, et al. 2008), que também permite diferenciar *M. avium* e *M. intracellulare*.

A identificação de *M. a. subsp. avium* foi comprovada pela presença da IS1311 (200 bp) (Roiz et al., 1995) e da presença de IS1245 (389 bp) (Borgdorff et al., 1998). *M. a. subsp. paratuberculosis* foi confirmado pela presença de IS900 (Moss et al., 1992).

RESULTADOS

Esta técnica permitiu a identificação do género *Mycobacterium*, pela presença de uma banda de 1030 pb, e a identificação de *M. avium*, pela presença de uma banda 180 pb e *M. intracellulare*, pela banda de 850 pb.

O Complexo *Mycobacterium avium* foi detetado em 96 (33,9%; IC 95%: 28,6-39,6%) dos animais estudados (Fig. 2).

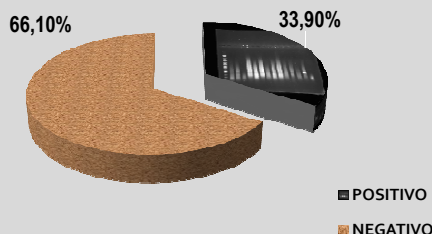


Figura 2-Número de animais positivos ao MAC

A prevalência de deteção de MAC foi elevada em raposas 15,2% (IC 95%: 7,6-28,2%) em javalis 23,4% (IC 95%: 17,4-30,7%) e em veados 73,2% (IC 95%: 60,4-80,3%) (Fig.3).

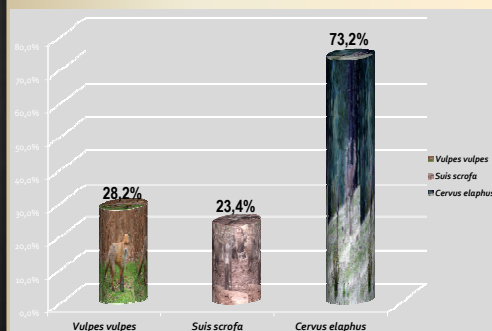


Figura 3-Prevalência de deteção de complexo *Mycobacterium avium*, por espécie animal

O Complexo *Mycobacterium avium* também foi detetado em fuinhas, ginetas, lontras e saca-rabos, embora em valores reduzidos (Fig.4).



Figura 4- Espécies de mamíferos selvagens onde foi detetado MAC.

Dentro do complexo apenas se detetaram *M. avium* subsp. *avium* e *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.

CONCLUSÕES

O presente estudo é o primeiro rastreio sistemático do Complexo *Mycobacterium avium* em mamíferos selvagens em Portugal e demonstra a prevalência elevada deste complexo em diferentes espécies animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borgdorff, M.W.; Nagelkerke, N.; van Soolinghen, D.; de Haas, P.E.; Veen, J.; van Embden, J.D. (1998). Analysis of tuberculosis transmission between nationalities in the Netherlands in the period 1993–1995 using DNA fingerprinting. *Am. J. Epidemiol.*, 147:187–195.
- Moravkova M, Hlozek P, Beran V, Pavlik I, et al. Strategy for the detection and differentiation of *Mycobacterium avium* species in isolates and heavily infected tissues. *Res Vet Sci* 2008;85:257-264.
- Moss, M. T.; Sanderson, J. D.; Tizard, M. L.; Hermon-Taylor, J.; El-Zaatari, F. A.; Markesich, D. C.; Graham, D. Y. (1992). Polymerase chain reaction detection of *Mycobacterium paratuberculosis* and *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* in long term cultures from Crohn's disease and control tissues. *Gut*, 33:1209-1213.
- Roiz, M. P.; Palenque, E.; Guerrero, C.; Garcia, M. J. (1995). Use of restriction fragment length polymorphism as a genetic marker for typing *Mycobacterium avium* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 33:1389–1391.