

# Prevalência da Infecção de *Mycobacterium bovis* em Quatro Famílias de Carnívoros Selvagens em Portugal

Matos AC<sup>1,2</sup>, Morais M<sup>3</sup>, Dias AP<sup>3</sup>, Figueira L<sup>2</sup>, Martins MH<sup>2</sup>, Santos MP<sup>4\*</sup>, Pinto ML<sup>1,3</sup>, Coelho AC<sup>1,3</sup>, Matos M<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup>Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal

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

<sup>4</sup>Departamento de Genética e Biotecnologia, Centro de Genómica e Biotecnologia, Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal

\*Autor correspondente: lene.santos18@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

A tuberculose é considerada uma doença emergente a nível mundial. Esta doença tem apresentado elevada prevalência em animais selvagens. Efetuou-se um estudo para estimar a prevalência de *Mycobacterium bovis*, em carnívoros selvagens encontrados mortos entre 2009 e 2013, em dois concelhos da região da Beira Baixa, em Portugal.



## MATERIAL E MÉTODOS

Efetuaram-se exames *post mortem* tendo-se colhido amostras de fezes e tecidos de carnívoros selvagens que representavam 4 famílias e 6 espécies diferentes num total de 79 animais. Foram analisadas por cultura e PCR, amostras de fezes e tecidos de animais pertencentes à família Canidae [raposas (*Vulpes vulpes*), n=52], família Viverridae [gineta (*Genetta genetta*), n=3], família Herpestidae [saca-rabos (*Herpestes ichneumon*), n=15], família Mustelidae [lontra (*Lutra lutra*), n=3; texugo (*Meles meles*) n=2; marta (*Martes foina*) n=4] (Fig.1).

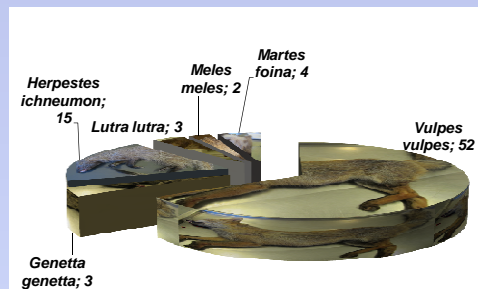


Fig. 1- Espécies de carnívoros selvagens amostrados

As culturas foram efetuadas em Löwenstein-Jensen e Middlebrook 7H11 e os isolados confirmados por PCR. Os tecidos foram rastreados para *Mycobacterium bovis* através da extração direta em tecidos do DNA e amplificação por PCR (Fig.2). Todas as amostras foram previamente testadas por uma reação de amplificação PCR 16S rDNA modificada (Moravkova, et al. 2008) para identificar o género *Mycobacterium* e diferenciar *M. avium* e *M. intracellulare*. Quando o género foi identificado uma segunda reação de PCR foi feita para detetar bactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MTC) baseado em Cousins et al. (1991). Estas bactérias foram identificadas através de um sistema PCR multiplex baseado em Warren et al. (2006) com o objetivo de diferenciar os membros do MTC.

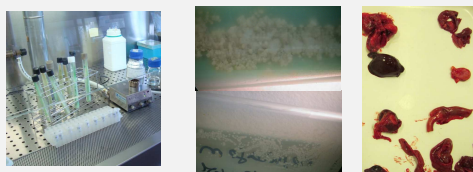


Fig. 2- Colônias e Órgãos amostrados

## RESULTADOS

A análise da deleção utilizando o sistema PCR multiplex "targeting" RD1, RD4, RD9 e RD12 confirmou a presença de *Mycobacterium bovis* devido à amplificação de fragmentos de DNA com tamanhos de 146 pb, 268 pb, 108 pb e 306 pb, respetivamente (Fig.3).

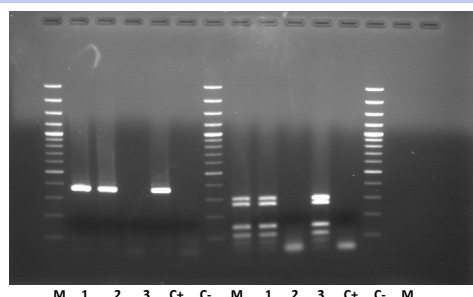


Fig. 3- Produtos de amplificação obtidos na PCR MP70 R / MPB70 F e PCR multiplex (M.M.- marcador molecular; Amostras; C+: controlo positivo; C-: controlo negativo).

*Mycobacterium bovis* foi detetado em 21 animais dos 79 estudados.

A prevalência em carnívoros foi de 26,6% (CI 95%: 18,1-37,3%) (Fig.4) e a prevalência por espécies foi 26,9% em raposas, 25,0% em martas, 33,3% em lontras, 0,0% em texugos, 66,7% em ginetas e 20,0% em saca-rabos (Fig.5).

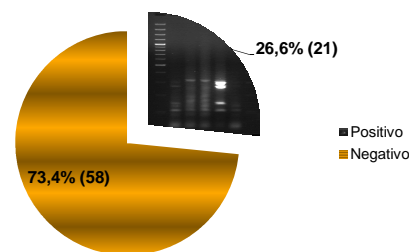


Fig. 4- Prevalência de *Mycobacterium bovis* em carnívoros selvagens

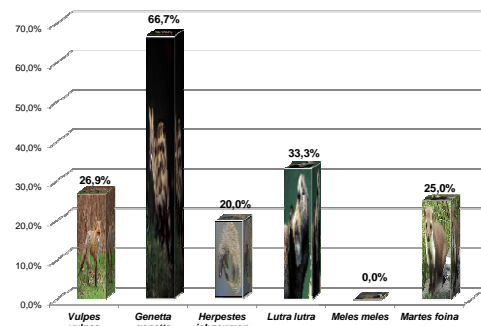


Fig. 5- Prevalência de *Mycobacterium bovis* em seis espécies de carnívoros selvagens

## CONCLUSÕES

O presente estudo é o primeiro rastreio sistemático de *Mycobacterium bovis* em carnívoros selvagens em Portugal e demonstra a prevalência elevada do agente em diferentes espécies animais.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Cousins DV, Wilton SD, Francis BR. Use of DNA amplification for the rapid identification of *Mycobacterium bovis*. Vet Microbiol 1991;27:187-195.

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.

Warren RM, Gey van Pittius NC, Barnard M, Hesselting A, et al. Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex by PCR amplification of genomic regions of difference. Int J Tuberc Lung Dis 2006;10:818-822