

# DETEÇÃO MOLECULAR DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP. *PARATUBERCULOSIS* EM RAPOSAS-VERMELHAS (*VULPES VULPES*)

Matos Ana Cristina<sup>1\*</sup>, Figueira Luís<sup>1</sup>, Loureiro Filipa<sup>2</sup>, Martins Helena<sup>1</sup>, Martins Manuel<sup>1</sup>, Pinto Maria de Lurdes<sup>3</sup>, Matos Manuela<sup>2</sup>, Coelho Ana Cláudia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>School of Agriculture, Polytechnic Institute of Castelo Branco, Portugal

<sup>2</sup>IBB-Institute for Biotechnology and Bioengineering, Centre of Genomic and Biotechnology, University of Trás-os-Montes and Alto-Douro, Department of Genetics and Biotechnology



Instituto Politécnico de Castelo Branco  
Escola Superior Agrária

<sup>3</sup>CECAV- Center for Animal Science and Veterinary, University of Trás-os-Montes and Alto-Douro, Department of Veterinary Sciences, Portugal



\*[acmatos@ipcb.pt](mailto:acmatos@ipcb.pt)

## INTRODUÇÃO

A transmissão de agentes infecciosos entre animais selvagens e domésticos é motivo de preocupação para a gestão da fauna selvagem e para a produção animal, não só porque afeta a saúde dos animais selvagens como estes podem atuar como potenciais reservatórios ou disseminadores de infeção para os animais domésticos e para o Homem.

As raposas (*Vulpes vulpes*) são mamíferos selvagens pertencentes à família Canidae. O estatuto de conservação em Portugal é considerado como não ameaçado, podendo ser encontrada por todo o território de Portugal Continental.

Neste trabalho efetuou-se a deteção por técnicas de biologia molecular de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em raposas encontradas mortas por atropelamento.

## RESULTADOS

A técnica de PCR detetou *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*) em 4 (8,9%) raposas (Figuras 1 e 2). Dois eram machos e duas eram fêmeas.

*Map* foi detetado na válvula ileocecal de 1 raposa, em pulmão e gânglio mediastínico de um animal, nos gânglios mesentérico e mediastínico de outro animal e no baço e gânglio retrofaringeo de outra raposa.



Figura 1-Número de animais positivos a *Map*

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 C+ C- MM

Figura 2- Produtos de amplificação obtidos na PCR IS900 (M.M. - marcador molecular; Amostras; C+: controlo positivo; C-: controlo negativo).

A cultura microbiológica foi negativa em todos os animais.

## MATERIAL E MÉTODOS

Colheram-se amostras de 45 animais, durante os anos de 2010-2012, nos concelhos de Idanha-a-Nova e Penamacor do distrito de Castelo Branco. Destes, 15 (33,3%) eram fêmeas e 30 (66,7%) eram machos e as idades variaram entre 4 meses e 8 anos.

As amostras colhidas para estudo foram fígado, pulmão, baço, cérebro, intestino, válvula ileocecal, rim, gânglios mesentéricos, retrofaringeos, mediastínicos, amígdalas e fezes.

As amostras foram submetidas à técnica de PCR e à cultura em meios específicos.

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.

Para deteção da sequência de inserção IS900 utilizaram-se "primers", compostos por 20 pares de bases (pb) descritos, em 1992 por Moss e seus colaboradores que amplificam um fragmento de 389 pb da sequência IS900 específica de *Map*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estes resultados preliminares indicam as raposas como reservatório de *Map* em Portugal.

Do nosso conhecimento, esta é a primeira vez que se fez a deteção de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* em raposas, no nosso país.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- Beard P.M., Daniels M.J., Henderson D., Pirie A., Rudge K., Buxton D., Rhind S., Greig A., Hutchings M.R., McKendrick I., Stevenson K., Sharp J.M. (2001). Paratuberculosis infection of non-ruminant wildlife in Scotland. *Journal of Clinical Microbiology*, 39, 1517-1521.
- Beard P.M., Henderson D., Daniels M.J., Pirie A., Buxton D., Greig A., Hutchings M.R., McKendrick I., Rhind S., Stevenson K., Sharp J.M. (1999). Evidence of paratuberculosis in fox (*Vulpes vulpes*) and stoat (*Mustela erminea*). *Veterinary Record*, 145, 612-613.
- Greig A., Stevenson K., Henderson D., Perez V., Hughes V., Pavlik I., Hines M.E., McKendrick I., Sharp J.M. (1999). Epidemiological study of paratuberculosis in wild rabbits in Scotland. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 1746-1751.
- Kopečna, M., Trčka, I., Lamka, J., Moravkova, M., Koubek, P., M. Heroldova, M., Mrík, V., Kralova, A., I. Pavlik, I. (2008). The wildlife hosts of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the Czech Republic during the years 2002-2007. *Veterinarni Medicina*, 53, 420-426.
- Nacy, C., Buckley, M. (2007). *Mycobacterium avium* paratuberculosis: Infrequent Human Pathogen or Public Health Threat? A Report From The American Academy Of Microbiology.
- Sivakumar, P., Tripathi, B.N., Singh, N. (2005). Detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in intestinal and lymph node tissues of water buffaloes (*Bubalis bubalis*) by PCR and bacterial culture. *Veterinary Microbiology*, 108, 263-270.