



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DA TUBERCULOSE COMO DOENÇA DE DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA EM
ABATES NORMAIS DE BOVINOS

Rui Miguel Oliveira

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Manuel d'Almeida Bernardo

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Doutora Maria Gabriela Lopes Veloso

ORIENTADORA

Doutora Maria Gabriela Lopes Veloso

COORDINADOR

Mestre Miguel José Sardinha
de Oliveira Cardo

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO DA TUBERCULOSE COMO DOENÇA DE DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA EM
ABATES NORMAIS DE BOVINOS

Rui Miguel Oliveira

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Manuel d'Almeida Bernardo

Doutor Fernando Jorge Silvano Boinas

Doutora Maria Gabriela Lopes Veloso

ORIENTADORA

Doutora Maria Gabriela Lopes Veloso

COORIENTADOR

Mestre Miguel José Sardinha
de Oliveira Cardo

2015

LISBOA

Agradecimentos

À minha orientadora Doutora Maria Gabriela Lopes Veloso e coorientador Mestre Miguel José Sardinha de Oliveira Cardo, pelos conselhos na programação do estágio e redação desta dissertação.

A todos os profissionais da DGAV que encontrei no decorrer do meu estágio, ao Dr. Miguel Lamela, Dra. Susana Santos, Dr. Rui Anjos, Dr. Baptista Dumba, entre outros, que demonstraram sempre disponibilidade para esclarecer dúvidas, apoiar e enriquecer a minha experiência de estágio.

À administração do matadouro da SICASAL, por ter autorizado o meu estágio, e a todos os funcionários que tão bem me trataram.

Aos meus amigos que estiveram presentes nesta jornada.

E, finalmente à minha família (Marta incluída), pelo apoio e compreensão incondicionais, não só na realização desta dissertação, como ao longo de toda a vida.

Resumo

Nesta dissertação pretendeu-se identificar potenciais indicadores de infeção por *M. bovis* em bovinos que apresentaram lesões suspeitas de Tuberculose bovina (69), em Portugal em 2014. Para isso avaliaram-se as informações resultantes da inspeção *post mortem*, informações referentes aos animais (idade, sexo, raça e aptidão) e ao número de movimentos realizadas entre explorações. Outro objetivo foi avaliar o critério da decisão sanitária aplicado aos animais com lesões suspeitas de Tuberculose.

Verificou-se uma associação entre a consistência da lesão e o resultado do exame laboratorial histopatológico e bacteriológico, em que a maioria dos animais com lesão caseo-cálcica foi positivo ao exame laboratorial. As lesões dos animais positivos localizaram-se quase exclusivamente nos linfonodos retrofaríngeos, brônquicos, mediastínicos e pulmão, tendo-se verificado uma associação entre o local da lesão e o resultado laboratorial obtido. A decisão sanitária quando duas ou mais regiões estavam afetadas foi de uma forma geral a reprovação total, enquanto quando apenas uma região se encontrava afetada, houve reprovação parcial.

Nos resultados referentes às informações dos bovinos, verificou-se que a maioria tinha mais de 6 meses e tinha como aptidão a produção de carne.

Em relação ao histórico dos movimentos entre explorações, observou-se que o grupo de animais positivos ao exame laboratorial realizou em média mais movimentos entre explorações que o grupo dos animais negativos e que a maioria dos animais nasceu no Alentejo.

Palavras-chave: Tuberculose bovina, *Mycobacterium bovis*, bovinos, inspeção *post mortem*, matadouro.

Abstract

This dissertation was intended to identify potential indicators of infection by *M. bovis* in animals that showed suspicious lesions of bovine tuberculosis (69), in Portugal in 2014. For that we evaluated the information resulting from the post mortem inspection, information related to animals (age, sex, breed and aptitude) and to the history of animals. Another objective was to verify the decision concerning the meat of animals infected by bovine tuberculosis.

It was found that most the animals with suspicious lesions, that showed a lesion with a caseo-calcarius consistency, were positive to laboratory examination. The lesions of positive animal were located almost exclusively in the lymph nodes retropharyngeal, bronchial, mediastinal and lungs. The decision of the veterinary was generally the total condemnation when two or more anatomic regions were affected and trimming when one region was affected. It was found that most of the animals had more than 6 months old and were cattle raised for meat production.

The results concerning the history of the animals showed that, the positives group made more movements between farms (mean) than the negatives, and that the majority was born in Alentejo.

Keywords: Bovine tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, cattle, *post-mortem* inspection, slaughterhouse.

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Índice Geral	iv
Índice de Figuras	vi
Índice de Tabelas.....	vi
Índice de Gráficos	vi
Lista de Abreviaturas	vii
Introdução.....	1
Breve descrição das atividades do estágio.....	1
Objetivos	2
I. Revisão Bibliográfica.....	3
1. Políticas Internacionais de Segurança dos Alimentos	3
2. Legislação Alimentar.....	3
3. Panorama da Segurança Sanitária dos Alimentos em Portugal	5
3.1. Consumo de géneros alimentícios em Portugal.....	5
3.2. Autoridades competentes na segurança dos alimentos.....	6
4. Plano de Acompanhamento da Inspeção Sanitária (PAIS)	6
4.1. Objetivos do PAIS	7
4.2. Metodologia do PAIS.....	7
4.3. Enquadramento do veterinário oficial na execução do PAIS.....	8
5. Áreas de intervenção do veterinário oficial no matadouro	8
5.1. Inspeção <i>ante mortem</i>	9
5.2. Inspeção <i>post mortem</i>	11
5.3. Decisão Sanitária	13
6. Tuberculose bovina.....	14
6.1. Perspetiva histórica	14
6.2. Etiologia	15
6.3. Transmissão.....	16
6.4. Patogenia e resposta imunitária	17
6.5. Sinais clínicos e lesões	18
6.6. Meios de diagnóstico.....	19
6.7. Epidemiologia mundial	22
6.8. Epidemiologia nacional.....	22
6.9. Tuberculose em animais silváticos	24
7. Programa de erradicação de tuberculose bovina	25
II – Parte Experimental.....	31

8. Materiais e Métodos.....	31
8.1. População em estudo.....	31
8.2. Métodos	32
8.3. Análise Estatística	33
9. Resultados e Discussão.....	35
9.1. Inspeção <i>post mortem</i>	35
9.1.1. Tipo de lesão	36
9.1.2. Localização das lesões	36
9.1.3. Regiões anatómicas com lesões.....	38
9.1.4. Decisão sanitária	39
9.2. Informação relativa aos animais.....	42
9.2.1. Idade.....	42
9.2.2. Sexo	43
9.2.3. Raça e aptidão.....	43
9.3. Histórico dos animais	45
9.3.1. Número de movimentos por animal.....	45
9.3.2. Região da exploração de nascimento	46
9.3.3. Região e regime da exploração que enviou o animal para abate	47
9.3.4. Região da exploração onde o animal viveu o maior período da sua vida	48
11. Conclusão.....	49
12. Bibliografia	50
Anexos	55
ANEXO I	56
ANEXO II	58
ANEXO III	59

Índice de Figuras

Figura 1. Componentes do Plano de Acompanhamento de Inspeção Sanitária (DGAV, 2013).	8
Figura 2 – Mapa da distribuição da tuberculose bovina no mundo no período de Janeiro 2014 a Junho de 2014. Adaptado de World Organization for Animal Health, 2015.	22
Figura 3 – Diagrama de processo após identificação de lesões típicas de Tuberculose bovina em matadouro, adaptado DGAV, 2015 ^a	29

Índice de Tabelas

Tabela 1. Consumo de carne <i>per capita</i> (kg/hab/ano) por tipo de carnes (INE, 2014).	5
Tabela 2. Definição de carne <i>sã</i> e conforme a higiene (Gil, 2000).	14
Tabela 3. Dados sobre explorações portuguesas em 2014 (adaptado de DGAV, 2015b)	23
Tabela 4. Dados sobre animais portugueses em 2014 (Adaptado de DGAV, 2015b)	24
Tabela 5. Região anatómica atribuída a cada localização de lesão.	32
Tabela 6. Aptidão atribuída a cada raça	33
Tabela 7. Distribuição de animais positivos e negativos por tipo de lesão	36
Tabela 8. Distribuição de animais positivos e negativos por localização da lesão	36
Tabela 9. Distribuição de animais positivos e negativos por região anatómica com lesão	39
Tabela 10. Regiões afetadas em função da decisão sanitária	40
Tabela 11. Distribuição de animais positivos e negativos por grupos etários	42
Tabela 12. Distribuição de animais positivos e negativos por sexo	43
Tabela 13. Distribuição de animais positivos e negativos por raça	44
Tabela 14. Distribuição de animais positivos e negativos pela aptidão produtiva	44
Tabela 15. Média do número de movimentos por animal, em função do resultado laboratorial	45
Tabela 16. Região da exploração de nascimento	46
Tabela 17. Região da exploração que enviou o animal para abate	47
Tabela 18. Região da exploração onde o animal permaneceu mais tempo	48

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Total de bovinos positivos e bovinos positivos detetados na necropsia em Portugal, entre os anos de 2010 e 2014	35
Gráfico 2. Distribuição de animais em função do número de regiões anatómicas afetadas	38
Gráfico 3. Distribuição de animais por outras regiões com lesão para além de lesão na região “Tórax”	38
Gráfico 4. Decisão sanitária em função do número de regiões afetadas	39

Lista de Abreviaturas

AESA – Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos

AO – Auxiliar Oficial

APPCC – Análise de Perigos e Pontos de Controlo Críticos

BAP – Balança Alimentar Portuguesa

CD4⁺ T_{H1} – Linfócito auxiliar

CMT – Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

DDO – Doença de Declaração Obrigatória

DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DPP – Derivado Proteico Purificado

DSAVR – Direção de Serviços de Alimentação e Veterinária Regional

DSSA – Direção de Serviços de Segurança Alimentar

EEB – Encefalopatia Espongiforme Bovina

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FEC-GM – Factor estimulador de colónias granulocíticas e monocíticas

FIM – Factor Inibidor de Migração

IDTc – Intradermotuberculização comparada

INF- γ – Interferão gama

INIAV – Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

IPPC – Convecção Internacional de Proteção das Plantas

IRCA – Informações Relativas à Cadeia Alimentar

LRV – Laboratório Regional de Veterinária

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

OMC – Organização Mundial do Comércio

OPP – Organizações de Produtores Pecuários

PAIS – Plano Acompanhamento da Inspeção Sanitária

PB – Passaporte Bovino

PCR-REA – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real

PISA.net – Sistema de Gestão de Saúde Animal

RASFF – Sistema de Alerta Rápido para os Géneros Alimentícios e Alimentos para Animais

SIPACE – Sistema de Informação do Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos

SNIRA – Sistema Nacional de Informação e Registo de Animais

SPS – Acordo sobre a Aplicação de Medidas Sanitárias e Fitossanitárias

TAR – Teste de Avaliação de Risco

TPRM – Teste de Pré-movimentação

T2 – Estatuto não indemne em saneamento

T2.1 – Estatuto não indemne infetado

T3S – Estatuto oficialmente indemne suspenso

T3 – Estatuto oficialmente Indemne

UE – União Europeia

VO – Veterinário Oficial

VNTR – Variable Number Tandem Repeat

Introdução

A uniformidade internacional vigente, relativa à legislação alimentar e à saúde animal, entre os membros da Organização Mundial do Comércio, tem vantagens económicas tanto a nível do produtor/empresário individual como da estratégia comercial nacional, na medida em que permite o acesso aos mercados internacionais. Desta uniformidade resulta não só um sistema de comércio que garante a segurança dos alimentos, mas também um conceito coerente e aplicável de livre comércio, sem promoção da concorrência desleal e sem recurso a injustificadas formas de restrição impostas pelos Estados-Membros. Para que as normas produzidas e reconhecidas internacionalmente sejam respeitadas, é necessário que os Serviços Veterinários sejam proficientes a prevenir, detetar e controlar as doenças animais e vegetais, respeitando para tal a legislação nacional produzida pelas autoridades competentes. Assim sendo, os Serviços Veterinários nacionais devem ser enquadrados por legislação veterinária apropriada e dotados de suficientes recursos humanos, administrativos, de gestão, técnicos e financeiros.

A presente dissertação surge como resultado do estágio na Direção de Serviços de Segurança Alimentar (DSSA), o que permitiu integrar conhecimentos sobre a relação entre organizações internacionais, europeias e nacionais, as quais procuram não só garantir um nível comum aceitável de segurança dos alimentos, mas também a fluidez do comércio internacional e o funcionamento de um mercado global.

De forma a enquadrar e melhor compreender os intervenientes e as suas atribuições, foi realizada para esta dissertação uma revisão bibliográfica com o tema base “Segurança Sanitária dos Alimentos”. Foi feito um estudo sobre o organigrama das organizações reguladoras do comércio alimentar internacional, sobre o funcionamento do processo legislativo na Europa, o posicionamento de Portugal e a organização das autoridades nacionais competentes no que diz respeito ao cumprimento dos requisitos de higiene e de segurança sanitária dos alimentos de origem animal e vegetal.

Breve descrição das atividades do estágio

O estágio curricular para a conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, que serviu de base para a elaboração da presente dissertação insere-se na área científica de Segurança dos Alimentos. A orientação esteve a cargo do Dr. Miguel José Sardinha de Oliveira Cardo, Chefe de Divisão de Saúde Pública da Direção de Serviços de Segurança Alimentar e teve início em Outubro de 2014 e terminou em Março de 2015.

Durante o período de estágio entendi o funcionamento de vários organismos internacionais, nomeadamente da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), do *Codex Alimentarius* e da Convenção Internacional de Proteção das Plantas (IPPC), bem como de organismos

européus, como o Parlamento Europeu, o Conselho Europeu e a Comissão Europeia, com especial ênfase no processo legislativo. Foi dedicada alguma atenção ao processo legislativo nacional, nomeadamente na identificação dos organismos portugueses responsáveis pela iniciativa legislativa, de acordo com as competências atribuídas nas respetivas leis orgânicas, além disso foram identificadas as atribuições e competências dos diferentes organismos para efeitos de controlo oficial e fiscalização no âmbito da segurança sanitária dos alimentos.

Durante o mês de Abril acompanhei o trabalho dos Veterinários Oficiais, responsáveis pela inspeção sanitária no matadouro da SICASAL em Vila Franca do Rosário.

Objetivos

O estágio na Direção de Serviços de Segurança Alimentar teve por objetivos:

- identificar os organismos internacionais dos quais emanam os regulamentos e recomendações reconhecidamente válidas no âmbito da Segurança dos Alimentos;
- conhecer o processo legislativo europeu e seus intervenientes;
- conhecer as autoridades nacionais responsáveis pela verificação do cumprimento dos requisitos de higiene e segurança sanitária dos alimentos de origem animal e vegetal.

O estágio efetuado com os Médicos Veterinários Oficiais em serviço no matadouro da SICASAL teve como objetivos:

- acompanhar e conhecer a ação do Médico Veterinário Oficial, enquanto inspetor sanitário;
- consolidar e expandir conhecimentos relacionados com a inspeção sanitária;
- contactar com a realidade de um matadouro.

O objetivo da parte experimental desta dissertação foi:

- descrever os casos de bovinos com lesões suspeitas de tuberculose detetados nos matadouros portugueses no ano de 2014.

I. Revisão Bibliográfica

1. Políticas Internacionais de Segurança dos Alimentos

A Organização Mundial do Comércio (OMC) é a instituição internacional responsável pelas regras do comércio internacional a nível mundial. A sua principal função consiste em garantir que o comércio flua de forma livre, com o objetivo último de aumentar a prosperidade dos países membros. Além desta função, a OMC é igualmente responsável pela gestão dos acordos que a compõem, pela cooperação com outras organizações internacionais, pela assistência técnica aos países em vias de desenvolvimento e pelo exame das políticas comerciais nacionais dos seus membros, assumindo o papel de fórum para as negociações comerciais internacionais (OMC, 2014).

Como organização responsável pelas normas internacionais, orientações e recomendações para a segurança sanitária dos alimentos, a OMC reconhece a Comissão do *Codex Alimentarius* (SPS). Esta comissão produz normas, diretrizes e orientações relativas aos aditivos alimentares, medicamentos veterinários, pesticidas, contaminantes, métodos de análise e amostragem, e boas práticas de higiene.

A política da UE protege a saúde humana ao longo de toda a cadeia agroalimentar, em cada etapa do processo de produção alimentar, do produtor ao consumidor, mediante a prevenção da contaminação, a promoção da higiene dos alimentos, a informação sobre os alimentos, bem como a sanidade vegetal, a saúde e o bem-estar dos animais (Comissão Europeia, 2013).

2. Legislação Alimentar

As crises alimentares da década de 90 marcaram um ponto de viragem na legislação alimentar. A da Encefalopatia Espongiforme Bovina (EEB) alterou a política em matéria da defesa dos consumidores e da segurança sanitária dos alimentos. Essas crises evidenciaram os limites da legislação comunitária e provocaram uma reação forte das autoridades públicas.

No intuito de uma reformulação da legislação, a Comissão Europeia publicou em 1997 o Livro Verde sobre os princípios gerais da legislação alimentar da União Europeia, que constituiu o ponto de partida para uma ampla reflexão sobre a legislação em vigor e as suas possíveis melhorias. O debate público iniciado com o Livro Verde conduziu à publicação do Livro Branco sobre a segurança dos alimentos em Janeiro de 2000. A Comissão anuncia o desenvolvimento de um quadro jurídico que abrange o conjunto da cadeia alimentar - "do prado ao prato" - de acordo com uma abordagem global e integrada. Com vista à instauração de um tratamento verdadeiramente uniforme em todo o território comunitário, o Livro Branco sublinha, designadamente, a necessidade de prosseguir a harmonização dos

sistemas nacionais de controlo e de os alargar às fronteiras externas da União Europeia, tendo em conta o próximo alargamento. Preconiza igualmente o estabelecimento de um diálogo permanente com os consumidores e os profissionais do sector, com vista à recuperação da confiança mútua. Por fim, o Livro Branco sublinha a necessidade de colocar à disposição dos cidadãos uma informação clara e precisa sobre a qualidade, os riscos eventuais e a composição dos alimentos (Ministério da Agricultura e do Mar, 2015).

Os princípios gerais da legislação alimentar atual entraram em vigor em 2002, com o Regulamento (CE) n.º 178/2002. Este regulamento-quadro criou a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (AESA), que foi incumbida de avaliar os riscos relacionados com a cadeia alimentar e prestar informações sobre o assunto. Cria, além disso, o Sistema de Alerta Rápido para os Géneros Alimentícios e Alimentos para Animais (RASFF), que permite aos Estados-Membros e à Comissão proceder a uma rápida troca de informações e à coordenação das respostas às ameaças para a saúde provenientes de géneros alimentícios ou dos alimentos para animais (Comissão Europeia, 2013).

Este regulamento inclui a maior parte dos elementos preconizados pelo Livro Branco e pretende que o sistema de segurança dos alimentos na União Europeia permita garantir elevada segurança (através de regras de produção, controlos sistemáticos e apoio laboratorial adequado e rápido) e maior proteção para o consumidor (através de educação e formação para a saúde). Estes passos devem ser atingidos através da vigilância e controlo de perigos (baseados na metodologia de análise de risco), implementação de sistemas de alerta rápido e fiscalização contínua do funcionamento do mercado interno (controlos veterinários do comércio intracomunitário). Nesse regulamento são ainda definidos alguns princípios como: responsabilidade dos agentes económicos, rastreabilidade, princípio da precaução, análise de risco e transparência e consulta (subsidiariedade) (Mariano & Cardo, 2007).

Em abril de 2004, no âmbito da abordagem “do prado ao prato”, foi adotado um novo quadro legislativo no domínio da higiene, conhecido como “pacote higiene”. Este pacote imputa diretamente a responsabilidade da higiene dos géneros alimentícios aos vários intervenientes na cadeia alimentar através de um sistema de autorregulação que recorre ao método APPCC (análise de perigos e pontos de controlo críticos). Em 2006, a Comissão adotou duas decisões (Decisão 2006/696/CE e Decisão 2006/766/CE) com vista a melhorar a aplicação das disposições do pacote higiene no que diz respeito ao comércio de animais e produtos de origem animal destinados ao consumo humano (Comissão Europeia, 2013).

Também fazem parte do “pacote higiene” os seguintes regulamentos:

- Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, que define as regras relativas à higiene dos géneros alimentícios;

- Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, que estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal;
- Regulamento (CE) n.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano e mais tarde;
- Regulamento (CE) n.º 2073/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 15 de Novembro, relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

3. Panorama da Segurança Sanitária dos Alimentos em Portugal

3.1. Consumo de géneros alimentícios em Portugal

Os hábitos alimentares em Portugal têm vindo a alterar-se, fruto da diminuição do poder de compra das famílias e consequente dificuldade no acesso a certos grupos alimentares, passando a privilegiar os hidratos de carbono por oposição às proteínas. O consumo de carne tem vindo a diminuir para todos as espécies, com exceção para a carne de aves de capoeira (Tabela 1).

Tabela 1 – Consumo de carne *per capita* (kg/hab/ano) por tipo de carnes.

Tipo Carne	2008	2009	2010	2011	2012
Bovino	19,6	19,5	19,2	18,1	16,7
Suíno	47,1	47,7	46,4	45,7	43,3
Aves capoeira	33,8	35,2	36,2	35,5	35,8
Peq.	2,8	2,7	2,6	2,6	2,5
Ruminantes					
Outras	3,0	2,6	3,0	2,6	2,5
Miudezas	6,2	6,0	6,1	5,9	5,2
Total de carnes e miudezas	112,5	114	113,5	110,4	106

Fonte: Balança Alimentar Portuguesa 2008-2012, INE 2014

Da análise aos dados publicados pelo Instituto Nacional de Estatística (INE, 2014), a Balança Alimentar Portuguesa (BAP) referente ao quinquénio 2008/2012 revela dois períodos marcadamente distintos: até 2010 um período de expansão caracterizado por elevadas disponibilidades alimentares e calóricas e a partir de 2010 com reduções acentuadas das disponibilidades alimentares. O ano de 2012 detém os níveis mais baixos

de disponibilidade alimentar de carne de bovino dos últimos 10 anos. Seria igualmente necessário recuar 13 anos para se encontrar um nível semelhante de disponibilidade alimentar de carne de suíno, passando a carne de aves de capoeira, pela primeira vez desde que há registos estatísticos, a garantir a principal disponibilidade de carne em Portugal. Idêntica tendência se verificou com as disponibilidades de frutos, laticínios e produtos da pesca, e que revelaram em 2012, respetivamente, mínimos de 20, 9 e 8 anos. Em relação ao consumo de carne em Portugal no ano de 2012 (Tabela 1), a mais consumida foi a de suíno, com uma capitação de cerca de 43,3 kg/hab/ano, apresentando no entanto um decréscimo em relação ao valor registado em 2010. O consumo de carne de aves de capoeira tem-se mantido constante, cerca de 35 kg/hab/ano. O consumo de carne de bovino tem vindo a diminuir, tendo uma descida abrupta nos anos 2011 e 2012. O consumo total de carne vinha em crescendo até 2010, passando a partir daí a descer de forma significativa.

3.2. Autoridades competentes na segurança dos alimentos

Em Portugal a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), enquanto autoridade responsável pela gestão do sistema de segurança dos alimentos, por força do disposto no Decreto Regulamentar n.º 31/2012 de 13 de março, assegura a inspeção sanitária dos animais abatidos com vista à colocação de carne e de produtos cárneos no mercado.

O poder legal foi conferido pelos regulamentos que regem a atividade dos controlos oficiais efetuados pela autoridade competente, como o Regulamento (CE) n.º 854/2004, o qual propõe que as regras específicas do controlo reflitam o âmbito das regras de higiene específicas aplicáveis aos operadores do sector alimentar. Assim, durante as auditorias de controlo, a autoridade competente deve verificar o cumprimento dos requisitos previstos pelos Regulamentos (CE) n.º 852/2004, (CE) n.º 853/2004, (CE) n.º 854/2004 e (CE) n.º 1069/2009.

A supervisão e o acompanhamento da atividade de inspeção surgem pela necessidade de assegurar que as tarefas são executadas de acordo com as normas definidas e também pela necessidade de assegurar que os serviços oficiais corrigem, adaptam e melhoram os seus procedimentos, face à realidade que vão constatando. Desta forma surgem vários planos de controlo entre os quais o Plano de Acompanhamento da Inspeção Sanitária (PAIS), desenhado e implementado pela DGAV, que pretende ser um mecanismo de controlo da eficácia da inspeção sanitária praticada em Portugal.

4. Plano de Acompanhamento da Inspeção Sanitária (PAIS)

O Regulamento (CE) n.º 882/2004 de 29 de Abril de 2004, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos

para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais, determina no artigo 8º que as autoridades competentes devem dispor de procedimentos que lhes permitam verificar a eficácia dos controlos oficiais que realizam e garantir que sejam tomadas medidas corretivas, se necessário.

Desta necessidade surge o PAIS, que pretende constituir um mecanismo que permita verificar a eficácia da inspeção sanitária e que permita a deteção e a correção de situações ou procedimentos que possam pôr em causa a eficácia desta atividade.

4.1. Objetivos do PAIS

Constituem objetivos do PAIS (DGAV, 2013):

- acompanhar a atividade dos Veterinários Oficiais, Auxiliares Oficiais e outros agentes do Estado, no exercício das suas funções de Inspeção Sanitária;
- promover a eficiência dos controlos oficiais na área da inspeção sanitária;
- garantir que são criadas as condições necessárias para diagnosticar as fragilidades do sistema de controlo oficial e as oportunidades de melhoria, no sentido de serem tomadas as medidas corretivas necessárias à manutenção de um elevado nível de proteção do consumidor e da segurança da carne;
- assegurar a manutenção de um sistema de partilha de informações relativas ao exercício da atividade, credível e permanentemente atualizado;
- contribuir para a uniformidade de procedimentos e de critérios de decisão, na atuação dos Veterinários Oficiais, Auxiliares Oficiais e outros agentes do Estado.

4.2. Metodologia do PAIS

O PAIS compreende as seguintes ações de supervisão e acompanhamento (DGAV, 2013):

- a) ações de supervisão em matadouro, efetuadas durante o decorrer das atividades de inspeção;
- b) análise de informações de inspeção, relativa à informação qualitativa, resultante da atividade, constante nos relatórios mensais de atividade e outros documentos;
- c) análise de dados de inspeção, relativa à informação de natureza quantitativa, resultante da atividade, registada no SIPACE;

O Sistema de Informação de apoio ao Plano de Aprovação e Controlo dos Estabelecimentos (SIPACE) é uma base de dados, desenvolvida pela DGAV, que colige um conjunto de informação relevante sobre os operadores das empresas do sector alimentar, os seus estabelecimentos, as atividades que desenvolvem bem como os resultados das ações de controlo previstos na regulamentação comunitária e as taxas de controlo oficial (DGAV, 2013).

As três componentes de atuação do PAIS estão resumidas no na figura 1.

Figura 1 – Componentes do Plano de Acompanhamento de Inspeção Sanitária.



Fonte: Plano Acompanhamento Inspeção Sanitária, DGAV 2013

4.3. Enquadramento do veterinário oficial na execução do PAIS

A atividade de Inspeção Sanitária desenvolvida por Veterinários Oficiais (V.O.), Auxiliares Oficiais (A.O.) e outros agentes do Estado em estabelecimentos de abate e de desmancha de carnes, tem regras definidas no Regulamento (CE) n.º 854/2004 de 29 de Abril.

Acrescem às competências dos V.O., A.O. e outros agentes do Estado (DGAV, 2013):

- colaborar com os Supervisores, no sentido de permitir levar a bom termo o processo de supervisão e acompanhamento;
- implementar as medidas de acompanhamento definidas pela Coordenação e reportar aos Serviços Regionais a informação relativa à implementação.

5. Áreas de intervenção do veterinário oficial no matadouro

A Inspeção Sanitária de produtos de origem animal tem as suas regras de execução definidas no Regulamento (CE) n.º 854/2004 de 29 de Abril e é uma atividade desenvolvida por Veterinários Oficiais (o veterinário habilitado a atuar nessa qualidade, nos termos do presente regulamento, e nomeado pela autoridade competente), Auxiliares Oficiais e outros agentes do estado em estabelecimentos de abate e de desmancha de carnes, com o intuito

de abranger todos os aspetos importantes para a saúde pública e, se for caso disso, da saúde e bem-estar dos animais. Esta atividade oficial deve também abranger os aspetos importantes para a proteção do meio ambiente, através de um correto e atento controlo da gestão de subprodutos (Vieira-Pinto, 2013). De acordo com este regulamento, o Veterinário Oficial desempenha tarefas diversificadas, nomeadamente de inspeção e auditoria, sobre as práticas utilizadas pelo operador, que têm como objetivo assegurar que a carne colocada no mercado, após atribuição da marca de salubridade, é proveniente de animais sujeitos a um controlo oficial, sustentado numa base científica sólida em matéria de segurança sanitária dos alimentos, que resulte num produto final com um elevado grau de segurança para o consumidor.

Segundo Garcia (2006) a incapacidade de eliminar alguns agentes zoonóticos nas explorações, associada às dificuldades existentes para evitar a contaminação das carnes, à ausência de um tratamento de descontaminação como a pasteurização, à possibilidade de presença de resíduos de substâncias químicas e ao rápido ritmo de trabalho nos matadouros, não permite garantir, na atual conjuntura, a total segurança sanitária das carnes, pelo que se deve submeter a carne fresca a um tratamento térmico eficaz, ou os produtos cárneos a processos tecnológicos que ofereçam garantias semelhantes, no que concerne à inativação dos agentes patogénicos presentes.

5.1. Inspeção *ante mortem*

De acordo com Gil (2000) e Garcia (2006), a inspeção *ante mortem* dos animais destinados ao abate para consumo humano deve começar na exploração de origem, por parte dos operadores das empresas do setor alimentar, devendo existir um registo com uma descrição exaustiva da história clínica e dos antecedentes dos efetivos. De acordo com a legislação em vigor (Regulamento (CE) n.º 854/2004) os operadores de empresas que criam animais destinados ao abate devem assegurar que as “informações relativas à cadeia alimentar” (IRCA), sejam incluídas na documentação referente aos animais expedidos, para que o operador responsável pelo matadouro tenha acesso às mesmas o mais tardar 24 horas antes da chegada do animal ou do lote de animais, e que após análise de conformidade as devem passar imediatamente para o V.O.

Em Portugal a Autoridade Competente, a DGAV, é responsável por definir e informar os operadores sobre quais os elementos mínimos que devem constar das informações relativas à cadeia alimentar. Após análise da IRCA, o V.O. emitirá a sua decisão relativa ao abate dos animais, sendo que o abate só se realizará após a sua aprovação (Regulamento (CE) n.º 854/2004).

A avaliação da informação relativa a eventuais problemas sanitários que podem ter ocorrido na exploração, e vertidos na IRCA, é fundamental para auxiliar o V.O. na emissão de uma

mais segura e sustentada ordem para abate e para uma melhor e mais eficaz organização da sequência (ordem) de abate (ex. abater em último animais com problemas sanitários). Com estes procedimentos, poderão ser acauteladas as situações sanitárias definidas na IRCA, as não visíveis à inspeção *ante mortem*, favorecendo uma mais eficaz inspeção sanitária e uma melhor salvaguarda da saúde animal (Gil, 2000; Garcia, 2006).

Quando os animais destinados ao abate não se fazem acompanhar da IRCA, o operador do matadouro tem que notificar o V.O. que pode decidir não abater os animais, ou abater, e neste caso a carcaça e miudezas tem que ser armazenadas separadamente das outras carnes, e a sua aprovação para consumo humano fica dependente da entrega das referidas informações no máximo 24 horas após a chegada dos animais, findo as quais, não havendo documentação, determina que a carne seja declarada imprópria para consumo humano (Regulamento (CE) n.º 854/2004).

A inspeção *ante mortem* consiste no exame dos animais vivos que vão ser abatidos, com o objetivo de detetar a presença de alterações fisiológicas (grau de fadiga, nutrição) e de saúde capazes de determinar que a carne que deles se vai obter não é apta para consumo humano (Garcia, 2006). O exame deve ser realizado em condições adequadas de iluminação, geralmente na abegoaria do matadouro. A sua realização obedece a normas específicas transcritas no Regulamento (CE) n.º 854/2004, que definem que é realizado pelo V.O. do matadouro, embora possa ser auxiliado pelos A.O., mas sempre sob a sua supervisão. A decisão final é sempre da responsabilidade do V.O. A inspeção deve ser realizada nas 24 horas após a chegada do animais ao matadouro e menos de 24 horas antes do abate, sendo aconselhável que o V.O. que realizou o exame *ante mortem* seja o mesmo que vai realizar do exame *post mortem* (Garcia, 2006).

O exame *ante mortem* tem várias finalidades, sendo algumas delas (Gil, 2000):

- identificar e permitir apreciar o estado higio-sanitário dos animais, com vista à obtenção de carnes próprias para consumo humano e conforme as boas práticas de higiene;
- Identificar sinais de doença, não detetáveis no exame *post mortem*;
- identificar e isolar animais doentes ou suspeitos, antes do abate;
- evitar a contaminação dos locais de estacionamento ou repouso, do material e do pessoal, bem como a propagação de doença;
- evitar prejuízos irreparáveis, ocasionados pelo abate de animais suscetíveis de recuperação;
- recolher e apreciar dados úteis à inspeção *post mortem*;
- avaliar as condições de bem-estar dos animais durante o período de repouso.

Após a inspeção *ante mortem*, o V.O. deverá emitir uma decisão relativa aos animais vivos, bem como estabelecer os condicionalismos de abate, cuja base de decisão está descrita no Regulamento (CE) n.º 854/2004:

- 1) Admissão para abate normal:

- quando não se verifique qualquer estado anormal significativo ou de doença e o animal se encontre suficientemente repousado (Gil, 2000); quando é possível ao V.O. assegurar que todos os animais sejam “devidamente identificados”; e quando “os animais que apresentem o couro, a pele ou o velo em condições tais que exista um risco inaceitável de contaminação da carne durante o abate não sejam abatidos para o consumo humano, a não ser que se proceda previamente à sua limpeza”.

2) Reprovação para abate normal:

a) abate imediato de animais (abates de emergência):

- no caso de traumatismos acidentais recentes, ou para impedir que o agravamento do estado do animal o torne impróprio para proporcionar carnes próprias para o consumo humano (Gil, 2000).

b) Abate separado na seção sanitária do matadouro ou no final do abate geral (abate sanitário):

- animais destinados a abate sanitário;

- animais mal identificados (problemas na rastreabilidade) ou não acompanhados pela IRCA;

- animais que não apresentando sintomas, tenham contactado com outros portadores de doenças contagiosas;

- animais sujos, sem condições no matadouro para garantirem a limpeza adequada dos mesmos;

- animais que sofram de doenças ou afeções que possam ser transmitidas a outros animais ou seres humanos através da manipulação ou do consumo da sua carne e, em termos gerais, os animais emaciados e os que apresentem sinais clínicos de uma doença sistémica.

3) Adiamento do abate de animais que apresentam um quadro passível de recuperação no matadouro, economicamente viável e sem comprometimento sanitário das instalações e dos outros animais:

- animais fatigados;

- animais magros ou desidratados;

- animais muito sujos;

- animais com doença ou afeção clínica recuperável.

5.2. Inspeção *post mortem*

A inspeção *post mortem* é a forma de atestar que as carnes e miudezas, obtidas dos animais sujeitos ao abate, são próprios para o consumo humano. Consiste num exame sensorial, em que são avaliados a cor, o cheiro, o aspeto geral e a consistência por palpação, em alguns casos são feitas incisões porque o exame das superfícies expostas é

insuficiente, apesar de neste caso se recomendar limitar as mesmas ao mínimo, com o objetivo de minimizar a contaminação microbiana decorrente (Garcia, 2006). Este exame complementa o exame *ante mortem*, pois existem animais que não mostrando sintomatologia, lesões ou outras anomalias observáveis no exame em vida, apresentam motivos que justificam a reprovação no exame *post mortem* (Garcia, 2006).

As carcaças e as miudezas que as acompanham devem ser submetidas a uma inspeção *post mortem* imediatamente após o abate. Uma vez que, de acordo com Garcia (2006), com o decorrer do tempo, aparecem odores anormais e alterações nas cores da carcaça e miudezas tornando mais difícil avaliar a normalidade das mesmas e a natureza das lesões presentes.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 854/2004, o V.O. tem associadas ao exame *post mortem* as seguintes tarefas:

1. As carcaças e as miudezas que as acompanham devem ser submetidas a uma inspeção *post mortem* imediatamente após o abate. Todas as superfícies externas devem ser examinadas. Para esse fim, podem ser necessárias instalações técnicas especiais ou uma manipulação mínima da carcaça e das miudezas. Deve ser prestada especial atenção à deteção de doenças zoonóticas, doenças constantes da lista A e, se for caso disso, da lista B da OIE¹. A velocidade da cadeia de abate e a quantidade de pessoal de inspeção presente devem ser de molde a permitir uma inspeção correta.

2. Devem ser efetuados exames suplementares, tais como a palpação e a incisão de partes da carcaça e das miudezas e testes laboratoriais, sempre que tal seja considerado necessário para:

a) chegar a um diagnóstico definitivo;

b) detetar:

- uma doença do foro animal;

- resíduos ou contaminantes em teores superiores aos estabelecidos na legislação

comunitária;

- a não conformidade com os critérios microbiológicos;

- outros fatores que possam implicar que a carne seja declarada imprópria para consumo humano ou que sejam impostas restrições à sua utilização, em especial, no caso de animais abatidos com carácter de urgência.

3. O veterinário oficial deve exigir que as carcaças de solípedes domésticos, de bovinos com mais de seis meses de idade e de suínos domésticos com mais de quatro semanas sejam submetidas à inspeção *post mortem* seccionadas longitudinalmente ao longo da coluna vertebral, formando meias carcaças. Se a inspeção o exigir, o veterinário oficial pode também exigir que qualquer cabeça ou carcaça seja seccionada longitudinalmente.

¹ Desde 2005 existe uma lista única que distingue entre doenças comuns a várias espécies e por espécie.

Contudo, para ter em conta hábitos alimentares especiais, progressos tecnológicos ou situações sanitárias específicas, a autoridade competente pode autorizar a entrega para inspeção de carcaças de solípedes domésticos, de bovinos com mais de seis meses de idade e de suínos domésticos com mais de quatro semanas não seccionadas a meio.

4. Durante a inspeção devem ser tomadas precauções para assegurar que a contaminação da carne por ações como a palpação ou a incisão seja reduzida ao mínimo.

5. No caso de abate de urgência, a carcaça e as miudezas serão submetidas, o mais rapidamente possível, a uma inspeção, nos termos dos pontos 1 a 4, antes de ser declarada própria para consumo humano.

5.3. Decisão Sanitária

Após efetuar todos os controlos referidos no Regulamento (CE) n.º 854/2004, o V.O deve emitir uma decisão sanitária relativamente à carne inspecionada, a emissão dessa opinião deve ser fundamentada nas informações recolhidas na IRCA, exames *ante mortem*, *post mortem* e nos exames laboratoriais caso tenham sido solicitados (Gil, 2000). Na tabela 3 consta a definição de carne sã e conforme a higiene, proposta por Gil (2000).

Tabela 3 – Definição de carne sã e conforme a higiene de acordo com Gil J., 2000

Quando não provoca infeção ou intoxicação alimentar se tiver sido corretamente manipulada e preparada em função do uso a que é destinada;
Quando não contenha resíduos que excedam os limites estabelecidos pelas disposições oficiais;
Quando está isenta de contaminação manifesta;
Quando está isenta de afeções e defeitos geralmente considerados como indesejáveis pelo consumidor;
Quando for produzida sob o controlo higiénico adequado;
Quando não tiver sido tratada com substâncias cujo emprego é interdito pelas disposições oficiais pertinentes.

Fonte: Gil J., Manual de inspeção sanitária de carnes, Lisboa, 2000.

As bases para a decisão sanitária final podem e devem sempre considerar:

- o Regulamento (CE) n.º 854/2004;
- as recomendações expressas no *Codex Alimentarius*;
- a extensão das alterações: localizadas/generalizadas;
- a tipologia da lesão: aguda/crónica.

Como já foi referido o V.O. é o responsável pela decisão final sobre a salubridade das carnes. Segundo Garcia (2006) as decisões sanitárias relativamente às carnes podem ser:

a) Aprovação para consumo humano, quando:

- não há qualquer alteração na carcaça e respetivas vísceras;
- as operações de abate foram efetuadas conforme as normas de higiene.

b) Aprovação condicional para consumo humano de:

- carne que através de tratamento térmico, sob controlo oficial, deixa de constituir perigo para a saúde humana.

c) Reprovação total para consumo humano quando a carne:

- representa perigo para manipuladores, consumidores e animais;
- apresenta alterações organoléticas inaceitáveis;
- tendo sido aprovada condicionalmente, não sofreu o tratamento indicado e estipulado para o efeito.

d) Reprovação parcial para consumo humano, quando se verificarem apenas alterações localizadas.

Apenas à carne são e conforme a higiene (tabela 3), portanto, apta para consumo humano é aplicada a marca de salubridade. Esta responsabilidade, assim como a de garantir que a carne declarada imprópria para consumo seja devidamente destruída de forma a impossibilitar a sua posterior utilização, cabe ao V.O.

Segundo o Regulamento (CE) n.º 854/2004 os resultados das atividades de inspeção devem ser registados e incluídos em base de dados adequada, e devem ser comunicados, sempre que necessário:

- à autoridade competente, em Portugal a DGAV, através do registo na base dados SIPACE;
- ao operador – presença de uma doença ou fator que possa por em risco a saúde pública, animal ou o bem-estar animal;
- ao veterinário responsável da exploração de origem.

A introdução desta dinâmica, na transferência de informações relativas às questões sanitárias dos animais abatidos para consumo humano, entre matadouro, produção primária e autoridade competente, permitirá uma maior perceção dos principais problemas sanitários existentes e, conseqüentemente, o seu controlo (Vieira-Pinto, 2013).

6. Tuberculose bovina

6.1. Perspetiva histórica

Muito antes de a tuberculose ser uma doença reconhecida e perfeitamente identificada, a maioria das pessoas não julgava ser possível que um único agente pudesse causar uma variedade de lesões e sintomas no Homem e nos animais, tais como a tuberculose miliar, a pneumonia caseosa, a tuberculose dos linfonodos, o *lupus vulgaris* no Homem e a mastite

tuberculosa nas vacas. As lesões tuberculosas eram muitas vezes diagnosticadas como abscessos, granulomas, sarcomas e sífilis (Ferreira, 1990).

Foi Aristóteles, no Séc. IV a.C., quem referiu pela primeira vez a ocorrência da Tuberculose nos bovinos e nos suínos. O filósofo grego descreveu a “escrofulose”, a forma glandular da tuberculose e declarou a sua contagiosidade, facto que veio a ser negligenciado nos vinte e dois séculos subsequentes. No Séc. V. d.C., Vegetius descreveu a tuberculose dos bovinos como uma “severa doença destrutiva” dos pulmões destes animais (Bernardo, 2013).

A palavra tubérculo significa nódulo e a sua origem deve-se a Sylvius, no século XVII. Foi Laennec, em 1819, quem descreveu pela primeira vez as lesões foliculares e infiltrativas, reconhecendo assim a granulação cinzenta, amarela, opaca e por fim, purulenta. Mais tarde, em 1868, Villemin provou que a tuberculose é uma doença infecciosa, reproduzindo a doença em coelhos injetados com material tuberculoso proveniente de humanos e de bovinos. Em Março de 1882, em Berlim, Robert Koch anunciou a descoberta do bacilo da tuberculose humana, agora chamado *M. tuberculosis*, e dois anos mais tarde teve sucesso ao conseguir a multiplicação do microrganismo. Em 1891, Robert Koch desenvolve a tuberculina, supostamente com valor terapêutico, mas, não obstante de ter falhado nesta finalidade, revelou-se um agente de diagnóstico de altíssimo valor (Ferreira, 1990; Daniel, 2006).

Em 1907, Pirquet realizou um estudo sobre as reações na pele à introdução intradérmica de uma pequena quantidade de tuberculina diluída, tendo verificado que reações positivas correspondiam a crianças com tuberculose latente (um termo que ele introduziu), portanto sem sinais clínicos de tuberculose. Florence Seibert, na universidade da Pensilvânia em 1930, desenvolveu o derivado proteico purificado (DPP), praticamente na forma como ele é atualmente comercializado (Daniel, 2006).

6.2. Etiologia

A tuberculose bovina é causada por *Mycobacterium bovis*, bactéria pertencente à família *Mycobacteriaceae*. As bactérias do género *Mycobacterium* são aeróbias estritas, não formam esporos, têm a forma de bastonetes curvos ou rectilíneos, com 1,5 a 4,0 µm de comprimento e 0,3 a 0,5 µm de largura. São Gram +, ácido-álcool resistentes, isto quer dizer que resistem ao efeito de descoloração depois de corados com corante de fucsina (Ziel-Nielsen). Contêm uma parede muito rica em lípidos, o que contribui para a sua resistência aos ácidos, à dessecação e aos desinfetantes, para o seu crescimento lento e para as suas características hidrofóbicas em meios fluidos. Quando se pretende o isolamento dos agentes, a resistência conferida pelo alto teor lipídico da sua parede celular permite o tratamento das amostras com produtos ácidos ou alcalinos, de modo a destruir os contaminantes, sem que quantidades significativas de micobactérias sejam também eliminadas (Coetzer & Tustin, 2004).

O bacilo da tuberculose sobrevive à exposição ao hidróxido de sódio (NaOH) a 4% ou ácido clorídrico (HCl1N) a 3% por 15 a 30 minutos, uma característica utilizada na descontaminação de amostras para diagnóstico. Os bacilos são destruídos pela luz solar, ultravioleta e pasteurização (Hirsh & Zee, 2003).

O grupo das micobactérias inclui cerca de 50 espécies, abrangendo desde bactérias saprófitas ambientais, patogênicas oportunistas a agentes patogênicos obrigatórios. Apesar das micobactérias patogênicas terem hospedeiros preferenciais, podem ocasionalmente infectar outras espécies. Existe um conjunto de micobactérias com grandes semelhanças entre si que provocam alterações patológicas semelhantes numa diversidade de hospedeiros. A este conjunto chama-se Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), o qual engloba não só o agente da tuberculose bovina, *M. bovis*, mas também *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. microti* e *M. canetti* (Coetzer & Tustin, 2004).

As micobactérias do CMT diferem essencialmente em termos de fenótipo e de tropismo por determinado hospedeiro. No entanto, a homologia do seu ADN (ácido desoxirribonucleico) é de 99,9% e são idênticas no gene 16S do Ácido Ribonucleico Ribossomal (rRNA) (Hirsh & Zee, 2003; Coetzer & Tustin, 2004).

O isolamento de micobactérias pode ser conseguido recorrendo tanto à cultura como à inoculação animal. As bactérias do CMT apresentam um crescimento lento (pelo menos 3 semanas), não produzem pigmento e não crescem à temperatura ambiente. Contrariamente, as colónias das bactérias saprófitas com crescimento rápido são visíveis em poucos dias (Coetzer & Tustin, 2004).

O desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico molecular, como os testes de ADN, complementam as sequências de rRNA espécie-específicas para o CMT. As técnicas de amplificação dos ácidos nucleicos, incluindo a Polymerase Chain Reaction ou PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), são métodos rápidos e sensíveis para a deteção de micobactérias em amostras biológicas (Coetzer & Tustin, 2004).

Os estudos epidemiológicos em micobactérias recorrem normalmente a técnicas imunológicas, à comparação de componentes da parede celular, à comparação de sequências enzimáticas, ao spoligotyping e à Variable Number Tandem Repeat (VNTR) (Coetzer & Tustin, 2004).

6.3. Transmissão

Apesar de *M. bovis* poder sobreviver vários meses no meio ambiente, a principal via de transmissão é a aerógena, em que os aerossóis são provenientes de animais infetados, que podem apresentar tosse ou espirros. Além dos aerossóis, a saliva, as fezes (de animais com lesões intestinais ou de saliva deglutida), o leite, a urina, as descargas vaginais e uterinas e as escorrências de lesões abertas dos linfonodos podem ser produtos virulentos e atuar como fonte de infeção. Humanos com tuberculose podem contaminar os bovinos por via

aerógena quer através do manejo dos animais ou da contaminação do ambiente, quer através da urina ou saliva (Quinn, Markey, Carter, Donnelly & Leonard, 2002; Hirsh & Zee, 2003; Coetzer & Tustin, 2004).

A principal via de contágio entre explorações é a introdução de animais infetados em efetivos em que os animais estão livres da doença. Apesar de espaços confinados como os estábulos potenciarem a disseminação da infeção, a doença ocorre também em explorações em que os animais não estão confinados e têm pouco ou nenhum contato entre si por longos períodos de tempo (Coetzer & Tustin, 2004).

A via congénita pode ser importante em explorações persistentemente infetadas e com uma elevada prevalência de tuberculose bovina, devido à transmissão pelo cordão umbilical. Pelo contrário, em explorações em que seja efetuado um controlo regular com o teste da tuberculina e eliminação dos animais positivos, a via aerógena é a grande responsável pela transmissão da doença (Menzies e Neil, 2000).

Frequentemente a fauna silvestre atua como hospedeiro reservatório do agente, o que tem prejudicado a erradicação da tuberculose bovina em certas áreas do Reino Unido e da Irlanda. Os texugos (*Meles meles*) infetados têm um papel relevante na epidemiologia da tuberculose dos bovinos, contaminando com urina as pastagens onde estes se encontram. O possum (*Trichosurus vulpecula*) na Nova Zelândia e o búfalo africano (*Syncerus caffer*) em África também são exemplos comprovados de hospedeiros reservatórios da tuberculose bovina (Quinn, Markey, Carter, Donnelly & Leonard, 2002; Hirsh & Zee, 2003; Coetzer & Tustin, 2004).

Em determinadas regiões de Portugal têm existido sérias dificuldades na erradicação da doença na população de animais domésticos, em parte devido à comprovada presença do agente em populações de caça maior e à transmissão entre as diversas espécies. As populações de caça maior com mais importância na dinâmica da doença nestas zonas parecem ser o veado (*Cervus elaphus*) e o javali (*Sus scrofa*) (Madeira, Ribeiro, Caetano, Pina, Manteigas, Caiola, Boinas, 2014).

6.4. Patogenia e resposta imunitária

Quando um animal é infetado por *Mycobacterium*, ocorre uma resposta imunológica de hipersensibilidade tipo IV (hipersensibilidade retardada). Esta situação verifica-se porque a resposta do hospedeiro ao microrganismo patogénico é essencialmente do tipo celular, pela ativação do sistema mononuclear fagocitário, não estando dependente da formação de anticorpos. Em animais que nunca tinham sido expostos ao agente, ocorre multiplicação local e ingestão pelos macrófagos. Os bacilos apresentam resistência à destruição fagocítica devido à presença de sulfolípidos na membrana celular bacteriana, em que a fusão do fagossoma com o lisossoma não acontece. A migração de macrófagos contendo bacilos viáveis de micobactérias possibilita a disseminação da infeção. Desenvolve-se uma

resposta inflamatória na região próxima da proliferação do agente, envolvendo histiócitos e monócitos. Células infetadas e bactérias atingem os linfonodos onde proliferam e desencadeiam nova resposta inflamatória (Quinn *et al.*, 2002; Hirsh & Zee, 2003).

A evolução da tuberculose no hospedeiro ocorre em duas fases, primeiro forma-se o complexo primário e depois dá-se a disseminação do agente microbiano. No complexo primário a lesão aparece na porta de entrada e no linfonodo regional associado. O complexo primário denomina-se completo quando a lesão existe nos dois locais e incompleto quando a lesão apenas aparece no linfonodo que drena a região por onde penetrou *Mycobacterium*. Uma lesão no local de entrada é frequente quando a via de infeção é aerógena. Quando a infeção ocorre pelo trato gastrointestinal é raro provocar lesão no local de entrada, sendo mais frequente o aparecimento de lesões nos linfonodos mesentéricos ou nos linfonodos retrofaríngeos (Coetzer & Tustin, 2004).

Após a primeira semana, o hospedeiro deixa de responder como se fosse uma infeção por corpo estranho e responde através de reações imunitárias mediadas por células, o que está na origem de lesões características. Os macrófagos infetados libertam IL-12, uma citocina responsável pela estimulação de linfócitos CD4⁺ T_{H1} para a produção de interferão gama (INF- γ), fator estimulador de colónias granulocíticas e monocíticas (FEC-GM) e fator inibidor de migração (FIM), que atrai e ativa macrófagos. A eficácia dos macrófagos em destruir as micobactérias vai depender da eficiência da resposta imunitária e da virulência bacteriana (Hirsh & Zee 2003). É nesta altura que se começa a formar a lesão primária ou foco primário e aproximadamente duas semanas depois inicia-se a calcificação da mesma. O foco primário, ou tubérculo, consiste no típico granuloma contendo um núcleo central de tecido necrosado com aspeto caseoso, parte do qual rapidamente sofre calcificação distrófica. Esta massa central necrosada é envolvida por células epiteliais, por células gigantes de Langhans, e mais perifericamente por linfócitos, macrófagos e por fibroblastos que acabam por formar tecido fibroso (Quinn *et al.*, 2002).

6.5. Sinais clínicos e lesões

A tuberculose bovina apresenta-se, geralmente, sob a forma crónica, com apresentação variável e muitas vezes subclínica. Por norma são necessários meses ou mesmo anos para que os sinais clínicos se desenvolvam. Na maioria dos animais infetados não existem sinais de doença, sendo detetada pelo teste da tuberculina; no caso de animais que exibam sinais de doença, a sua natureza vai depender do órgão ou aparelho envolvidos e da gravidade da infeção (Coetzer & Tustin, 2004). É uma doença debilitante, caracterizada por emaciação progressiva, perda de apetite, febre com temperaturas baixas e com flutuações, alterações na pelagem, linfadenomegália, tosse e diarreia (Hirsh & Zee, 2003).

Tendo em conta a natureza complexa da doença, as manifestações clínicas e patológicas podem variar substancialmente, e as diferentes medidas de controlo aplicadas pelos

diversos países condicionam os quadros clínicos. Por exemplo, em países onde existem medidas ativas e agressivas de controlo da doença, as manifestações são na maior parte dos casos respiratórias e a sua extensão é limitada. Já nos países onde a doença não é ativamente controlada, os casos de doença avançada com disseminação sistémica são frequentes. A progressão da doença pode ter vários desfechos, podendo ocorrer casos de remissão ou de recidiva. O aparecimento de lesões nos linfonodos e pulmão são a forma de tuberculose mais frequente em bovinos, apesar de também poderem surgir lesões nos rins, fígado, baço, ossos, articulações, glândula mamária, testículos, útero e ovários, estas localizações são raras e normalmente são consequência de disseminação por via hemática (Coetzer & Tustin, 2004). Nos bovinos o foco primário está localizado, em 95% dos casos, na cavidade torácica (Quinn *et al.*, 2002).

Em fases iniciais da doença as lesões, que são constituídas por agregados de macrófagos e células epiteliais, podem ser difíceis de detetar no exame *post mortem* por serem de pequenas dimensões (Quinn *et al.*, 2002).

6.6. Meios de diagnóstico

O diagnóstico da tuberculose em bovinos vivos é feito normalmente recorrendo a técnicas de imunologia, as quais permitem detetar animais que já contataram com o agente. Seguindo a legislação europeia e as recomendações da Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), o teste de rastreio utilizado consiste na injeção intradérmica de tuberculina e posterior deteção da reação de hipersensibilidade do tipo IV, que se manifesta através do espessamento da pele no local de inoculação. A tuberculina utilizada é um derivado proteico purificado (DPP), obtido laboratorialmente a partir do crescimento e tratamento térmico de determinadas estirpes de micobactérias. A reatividade nos bovinos é normalmente detetada 30 a 50 dias pós-infeção (Quinn *et al.*, 2002). O teste intradérmico pode ser simples ou comparado (IDT). No teste intradérmico simples injeta-se Tuberculina bovina (obtida de uma estirpe de *M. bovis*) na derme a nível da prega da cauda e o local de injeção é examinado 72 horas pós-inoculação, em que a reação positiva se caracteriza por um edema exuberante (Quinn *et al.*, 2002). O mérito do teste simples reside na sua elevada especificidade, estimada em valores entre 55,1% e 99%, com um valor médio acima de 95%. No entanto, apresenta uma baixa sensibilidade, estimada entre 53% (27,3-81,5, IC 95%) e 69,4% (40,1-92,2%, IC 95%), dependendo do critério utilizado (Rua-Domenech, 2006; Schiller *et al.*, 2010).

No teste intradérmico comparado utiliza-se a tuberculina bovina e a tuberculina aviária (obtida de uma estirpe de *M. avium* subsp. *avium*), em que as 2 tuberculinas são injetadas na tábua do pescoço, atendendo a que é um local mais limpo e mais sensível; as zonas de

injeção estão separadas por cerca de 12 cm e com prévia tricotomia do local de injeção. A espessura da pele é medida antes da injeção e 72 horas após a mesma (Quinn *et al.*, 2002). Consideram-se positivos os animais em que haja um aumento da espessura da pele no local de administração da tuberculina bovina, superior em 4 mm, no mínimo, relativamente ao aumento produzido na zona de injeção da tuberculina aviária ou sinais clínicos, tais como edema difuso ou extenso, exsudado, necrose, dor ou reação inflamatória dos canais linfáticos da região ou dos gânglios (DGV, 2005).

Um resultado positivo sugere infeção no passado ou no presente, alterando o estatuto sanitário da exploração. Com frequência não são encontradas lesões em animais que foram positivos ao teste intradérmico em regiões onde a prevalência da tuberculose bovina é baixa. Tais reações, aparentemente falso-positivas, são explicadas por alergias a agentes não-tuberculosos relacionados com outras micobactérias ou nocárdias. O uso simultâneo de tuberculina aviária, que deteta hipersensibilidade a uma série de micobactérias não-tuberculosas, é uma ferramenta auxiliar na decisão, por permitir uma avaliação comparativa do tamanho das duas reações, ajudando a avaliar se a reação de sensibilidade se deve à tuberculina de mamíferos ou a uma heteróloga. Outras explicações para a ausência de lesões em animais positivos ao teste intradérmico são as fases precoces da infeção, a localização incomum das lesões ou o tamanho microscópico das lesões (Hirsh & Zee 2003). Os falsos-negativos correspondem, na sua maioria, a animais infetados há menos de 30 dias, mas também podem ocorrer em casos de imunossupressão. Fatores não específicos como a má nutrição, o “stress”, a proximidade do parto, o estado de doença avançada ou a administração de fármacos imunossupressores, concorrem para um estado não responsivo do sistema imunitário, referido na literatura como estado “anérgico” (Hirsh & Zee, 2003).

A sensibilidade do teste intradérmico comparado é inferior á estimada para o teste simples, variando entre 52% e 100%. No entanto, a interpretação do teste comparado, permite obter uma especificidade mais elevada, sendo em média de 99,5% (Rua-Domenech, 2006; Schiller *et al.*, 2010).

Alguns testes sanguíneos foram desenvolvidos para serem utilizados em conjunto com o teste da tuberculina, nomeadamente o IFN- γ . A diferença entre o teste da tuberculina e o IFN- γ , é que este teste identifica animais infetados em fases mais precoces e está aprovado como teste suplementar para bovinos na Europa, nos EUA e Nova Zelândia (Coetzer & Tustin, 2004).

Em Portugal o IFN- γ é frequentemente utilizado em conjunto com a tuberculinização em explorações com histórico de bovinos positivos, ou em explorações com elevado número de casos positivos à prova IDTc (DGAV, 2015a).

Este teste (IFN- γ) é uma prova *in vitro* que se baseia numa resposta imunitária do tipo celular, ou seja, na libertação de IFN- γ por linfócitos T sensibilizados por um antigénio específico. O teste é realizado em duas fases distintas, sendo a primeira de estimulação do

sangue total com tuberculina bovina e aviária durante 16 a 24 horas e a segunda de detecção e quantificação do IFN- γ produzido, através de um teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Em animais previamente sensibilizados por *M. bovis* há uma maior produção de IFN- γ após a estimulação com a tuberculina bovina (Coetzer & Tustin, 2004).

De acordo com Rua-Domenech, 2006, o teste IFN- γ tem maior sensibilidade que a tuberculinização simples e comparada. No entanto, a IDTc tem uma maior especificidade que os outros testes referidos e usando os dois testes (IDTc e INF- γ) em paralelo, obtém-se uma sensibilidade ainda mais elevada. Uma meta-análise a 15 estudos de campo realizados entre 1991 e 2006, demonstrou uma sensibilidade média estimada de 87,6% (73-100%, IC 95%) e uma especificidade de 96,6% (85-99,6%, IC 95%) para o teste do INF- γ (Rua-Domenech, 2006).

A elevada sensibilidade do teste IFN- γ é adequada quando a prevalência é elevada ou a doença está em rápida disseminação e se pretende detetar o maior número possível de animais doentes. Como nem todos os animais doentes são positivos ao teste, é recomendável a utilização deste e da tuberculinização em paralelo, para que nenhum animal positivo escape ao rastreio, pelo aumento verificado da sensibilidade (Coetzer & Tustin, 2004). Este teste tem como vantagens, não necessitar de uma segunda visita à exploração, não interferir com o sistema imunitário do animal testado e poder ser repetido com um menor intervalo de tempo do que a tuberculinização, que necessita de um intervalo mínimo de 42 dias entre provas (DGAV, 2015a).

O diagnóstico *post mortem* é normalmente baseado no exame anátomo-patológico para detecção das lesões típicas e de acordo com a literatura apenas 50% dos animais infetados são detetados na inspeção rotineira de carcaças. Nos animais suspeitos deve proceder-se à recolha de amostras para confirmação laboratorial. As amostras adequadas a serem enviadas para diagnóstico laboratorial são os linfonodos, os tecidos que contenham as lesões, as secreções e o leite (Quinn *et al.*, 2002).

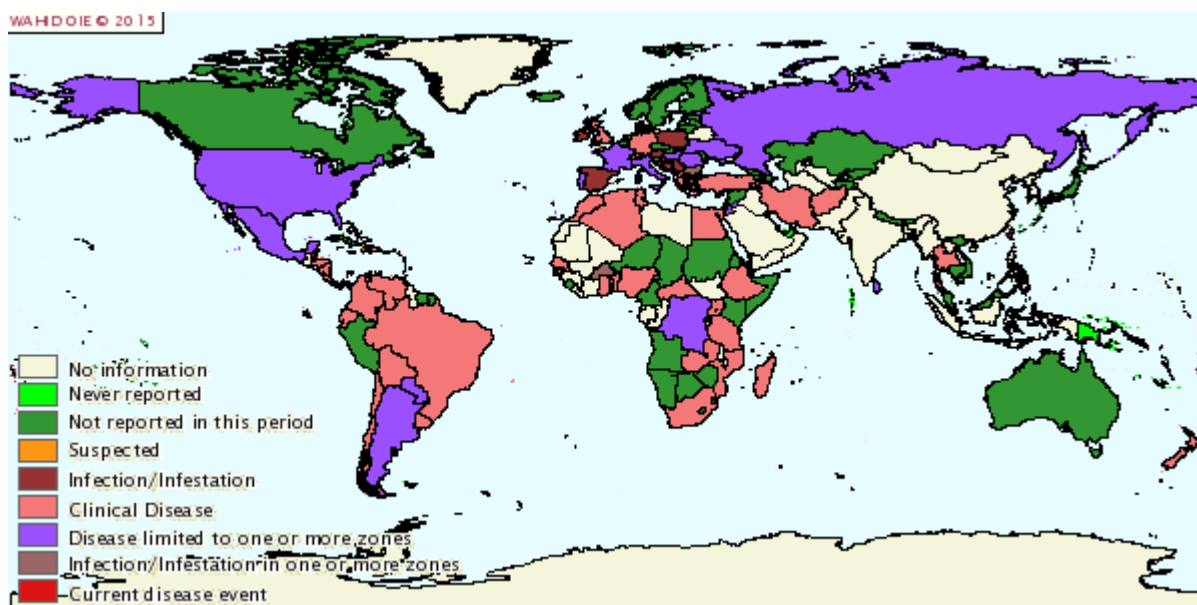
O isolamento de *M. bovis* requer a descontaminação das amostras de modo a eliminar as bactérias contaminantes de crescimento rápido. Assim, são tratadas durante cerca de 30 minutos com hidróxido de sódio a 2-4% ou ácido oxálico a 5%, seguindo-se uma neutralização com um ácido ou base, dependendo do descontaminante, e uma centrifugação de modo a concentrar as micobactérias, sendo o sobrenadante descartado. Após centrifugação, inocula-se o depósito em meio adequado (Middlebrook, Stonebrink-leslie ou Lowenstein-Jensen), sem glicerol e com piruvato de sódio a 0,4% e incuba-se a 37° C em aerobiose por um período que pode ir das 3 às 8 semanas. Os critérios para a identificação dos isolados são a velocidade de crescimento, a aparência das colónias, a positividade à coloração Ziel-Nielssen, o perfil bioquímico, técnicas moleculares e analíticas (Quinn *et al.*, 2002).

6.7. Epidemiologia mundial

A tuberculose é preocupante para a saúde pública mundial, principalmente em países em desenvolvimento, devido às dificuldades na aplicação de medidas de prevenção e controlo da doença. Nos países desenvolvidos, a implementação de medidas preventivas e de controlo, como o rastreio de animais, o abate dos animais positivos ou a pasteurização do leite, contribuíram para a erradicação da doença em vários países (Humblet, *et al.*, 2009). Nestes países, os animais silváticos, em reservas naturais ou jardins zoológicos, uma vez que não sofrem ações de rastreio, continuam como potenciais reservatórios do agente (Hirsh & Zee, 2003).

A tuberculose está mundialmente distribuída (Figura 2), estando presente em todos os continentes à exceção da Oceânia. É de notar que os países em que os animais exibem sinais clínicos se situam maioritariamente no hemisfério sul, assim como é nesses países que não existem dados sobre a doença. Na Europa, países como o Reino Unido e a Alemanha, têm casos de animais com sinais clínicos de doença, o que revela cronicidade das infeções e dificuldades nos programas de erradicação da doença. No mapa da distribuição da doença a nível mundial (Figura 2), Portugal surge como um país onde a doença é reportada mas está confinada a algumas regiões.

Figura 2 – Mapa da distribuição mundial da tuberculose bovina no período de Janeiro 2014 a Junho de 2014. Adaptado de World Organization for Animal Health, 2015.



6.8. Epidemiologia nacional

De acordo com informações integrantes do programa de erradicação da tuberculose bovina para 2015, até ao ano de 2008 os indicadores epidemiológicos traduziam-se numa prevalência de 0,11% e incidência de 0,07% em exploração e de uma prevalência de 0,03% em animais (anexo III). A redução destes indicadores nos últimos 6 anos na região do Algarve, permitiu já no ano de 2012 o reconhecimento desta região como oficialmente indemne de tuberculose, conforme consta na Decisão 2012/204/EU de 19 de abril de 2012. A informação de 2012 relacionada com a região do Algarve está inserida nos relatórios elaborados em conformidade com o artigo 8.º da Diretiva 64/432/EEC de 26 de junho de 1964, referentes às regiões indemnes. Nas restantes regiões, nos anos de 2009 e 2010, verificou-se um agravamento destes indicadores atingindo em 2010 os valores de 0,90% de prevalência em exploração, 0,73% de incidência em exploração e 0,32% de prevalência em animais (DGAV, 2015a).

O agravamento teve particular relevo na região do Alentejo, em algumas áreas da região Centro e do Norte, e teve suporte não só na deteção em vida na exploração mas também na deteção em matadouro, a qual por via da melhoria do fluxo de informação proporcionado pela reorganização dos serviços veterinários se revelou uma ferramenta indispensável para a aferição das estratégias implementadas e da capacidade de deteção em exploração (DGAV, 2015a).

Em 2014, tendo em conta o relatório técnico do ano a que concerne o programa de erradicação da tuberculose (DGAV, 2015b), apenas houve rastreio em 93,53% das explorações previstas tendo-se registado 0,25% novas explorações positivas (Tabela 3) e uma prevalência de 0,05% nos animais testados (Tabela 4).

Tabela 3 – Tuberculose bovina em explorações portuguesas, em 2014 (adaptado de DGAV, 2015b).

Região	Explorações testadas (%)	Nº explorações Testadas	Nº explorações positivas	Nºnovas explorações positivas	Prevalência explorações positivas (%)	Novas explorações positivas (%)
Norte	91,72	17066	21	13	0,13	0,08
Centro	95,10	6261	22	19	0,37	0,2
LVT	95,22	1045	4	4	0,39	0,39
Alentejo	98,27	4136	54	38	1,30	0,91
Açores	93,48	2288	7	7	0,14	0,14
Totais	93,53	30796	108	81	0,34	0,25

Estudos epidemiológicos realizados em 2010 (Fonseca, 2011), recorrendo a inquéritos epidemiológicos às explorações infetadas, revelaram como principais fatores de risco em Portugal, a introdução de novos animais na exploração (26%), o contacto com espécies

silváticas (19%), o contacto direto com outras explorações (15%) e a recorrência de infeção em explorações previamente afetadas (7%).

Tabela 4 – Prevalência da tuberculose bovina em Portugal, em 2014 (Adaptado de DGAV, 2015b).

Região	Animais testados (%)	Nº Animais testados	Nº Animais positivos	Prevalência de animais positivos (%)
Norte	84,86	270198	38	0,01
Centro	95,51	135528	63	0,05
LVT	85,67	86596	17	0,02
Alentejo	89,30	572360	527	0,09
Açores	90,03	135497	21	0,02
Totais	88,72	1200629	666	0,06

6.9. Tuberculose em animais silváticos

Recentemente tornou-se evidente que *M. bovis*, agente da tuberculose bovina, é comum em várias espécies silváticas em diferentes partes do globo. A infeção em animais silváticos é importante, não só pelo risco que constitui para a conservação das espécies, sobretudo daquelas em risco de extinção, mas também pelo facto de essas espécies poderem atuar como reservatório e fonte de infeção do agente, perpetuando a infeção nos animais domésticos (Coetzer & Tustin, 2004). Apesar de *M. bovis* já ter sido identificada em diferentes espécies silváticas, nem todas constituem um reservatório natural da doença. É necessário fazer a distinção entre os hospedeiros de manutenção, aqueles capazes de manter e disseminar a infeção, e os hospedeiros acidentais. A localização das lesões nos animais silváticos pode ajudar a caracterizá-los: as lesões localizadas na cavidade torácica sugerem infeção por via aerógena, comumente observadas em hospedeiros de manutenção como os herbívoros/omnívoros silváticos. As lesões associadas ao aparelho digestivo sugerem infeção por via oral, normalmente pelo consumo de carcaças infetadas, são características de hospedeiros fundo de saco como os carnívoros silváticos (Humblet *et al.*, 2009).

A capacidade de atuar como reservatório natural da doença depende da prevalência da infeção na população, da resposta imunológica do hospedeiro de manutenção e da relação que este mantém com o meio ambiente em que habita (Corner, 2006).

A complexa natureza da epidemiologia da tuberculose bovina, assim como o papel da vida selvagem na manutenção da infeção têm sido estudadas e verificou-se que são prejudiciais

para os programas de controlo e erradicação existentes, tantos nos países desenvolvidos como em desenvolvimento (Coetzer & Tustin, 2004).

No âmbito do plano de erradicação da tuberculose bovina em Portugal, entre Janeiro de 2003 e Abril de 2008, foram isoladas e identificadas por PCR-REA 151 estirpes de *Mycobacterium bovis*, agente etiológico da tuberculose bovina, de 114 veados (*Cervus elaphus*) e de 37 javalis (*Sus scrofa*) com lesões suspeitas de tuberculose (Botelho, Duarte, Afonso, Albuquerque & Amado, 2008).

Com base na probabilidade de transmissão entre animais, devido à proximidade de explorações bovinas, estirpes de *M. bovis* isoladas de veados e de javalis foram selecionadas para tipificação. A tipificação molecular demonstrou que, em duas situações concretas, as estirpes de *M. bovis* isoladas, respetivamente, de javalis e de veados apresentavam o mesmo genótipo que estirpes bovinas de explorações próximas. Estes dados comprovam, que em Portugal, animais silváticos e bovinos partilham as mesmas estirpes de *M. bovis*, havendo transmissão de estirpes entre eles ou uma origem comum de infeção (Botelho, Duarte, Afonso, Albuquerque & Amado, 2008).

A presença de lesões macroscópicas típicas de tuberculose nos animais selvagens deverá alertar para a necessidade de uma inspeção rigorosa das carcaças, atendendo ao carácter zoonótico do agente. O risco de transmissão ao Homem e animais domésticos existe e será fundamental considerá-lo futuramente na elaboração e implementação de medidas de controlo e erradicação eficazes da tuberculose bovina em Portugal (DGV, 2011b)

7. Programa de erradicação de tuberculose bovina

A DGAV é a entidade responsável pela definição das estratégias, coordenação, controlo da execução e auditorias do programa de erradicação da tuberculose bovina. As entidades executoras das ações de campo (rastreamento e saneamento) são as Organizações de Produtores Pecuários (OPP), que apresentam para aprovação à DGAV um programa sanitário anual elaborado pelo seu Médico Veterinário Coordenador (DGAV, 2015a).

O programa visa o controlo e erradicação da tuberculose bovina e é elaborado para um período de vigência de 1 ano, prevendo-se uma diminuição da prevalência e incidência da doença, que permita elevar o estatuto das explorações e alcançar a indemnidade em sucessivas regiões do país a médio prazo e atingir o estatuto de estado membro indemne da doença no mais curto espaço de tempo (DGAV, 2015a).

São abrangidos pelo programa todos os bovinos machos e fêmeas com mais de 6 semanas de idade das explorações abrangidas, tendo como exceção os machos destinados à engorda das explorações oficialmente indemnes das regiões em que, de acordo com a legislação nacional e comunitária, os indicadores epidemiológicos o justifiquem (DGAV, 2015a).

O programa tem sido implementado em todo o território de Portugal continental, exceto na região do Algarve que obteve o estatuto de região oficialmente indemne, assim como na Região Autónoma dos Açores (DGAV, 2015a).

A prova oficial de diagnóstico é a prova de intradermotuberculinização comparada (IDTc) em que são reconhecidos resultados positivos, negativos e duvidosos. Na sequência de um resultado duvidoso é efetuado nova IDTc 42 dias depois, para esclarecimento do resultado. Nestes casos a positividade do animal é determinada se obtido resultado não negativo (positivo ou duvidoso) nesta segunda prova (DGAV, 2015a).

A prova do interferão gama é uma prova complementar de diagnóstico efetuada em simultâneo com a prova de IDTc nas seguintes situações (DGAV, 2015a):

- a) nas explorações não indemnes de tuberculose bovina que apresentem animais duvidosos à prova da IDTc;
- b) como alternativa ao abate total, nas explorações infetadas que apresentem sucessivamente animais positivos à prova de IDTc (positividade crónica);
- c) nas explorações (com qualquer estatuto sanitário) que apresentem uma percentagem significativa de animais positivos a uma única prova de IDTc.

Todas as explorações abrangidas pelo programa têm estatuto sanitário de acordo com a Diretiva 64/432 CEE de 26 de junho e o Decreto-lei 272/2000 de 8 de novembro (DGAV, 2015a).

Os estatutos sanitários são atribuídos ou alterados pelos serviços oficiais e dividem-se em oficialmente indemne (T3) e não indemne, que inclui não indemne em saneamento (T2) e não indemne infetado (T2.1). O estatuto oficialmente indemne (T3) pode ser suspenso (T3S) ou retirado, passando a não indemne infetado (T2.1). De acordo com os resultados dos controlos necessários para retoma de estatuto, o efetivo adquire o estatuto de não indemne em saneamento (T2) e posteriormente o estatuto de indemne (T3) (DGAV, 2015a).

Apenas a movimentação de animais a partir de efetivos oficialmente indemnes é permitida sem restrições, pelo que é atualizada a informação patente na base de dados de registo e identificação de bovinos (SNIRA) e do Programa Informático de Saúde Animal (PISA.net) relativamente ao estatuto sanitário dos efetivos (DGAV, 2015a).

Os efetivos com estatuto suspenso (T3S) ou não indemne (T2.1 e T2) efetuam apenas movimentações com destino a abate, sob controlo oficial (DGAV, 2015a).

A dinâmica de atribuição, manutenção e alteração de estatuto sanitário definida no programa é a seguinte, esquematizada no anexo II (DGAV, 2015a):

- são considerados oficialmente indemnes de tuberculose os efetivos que cumprem o programa de testes atrás referido e nos quais os bovinos introduzidos com mais de 12 meses de idade são submetidos com resultado negativo a um teste (IDTc) nos 30 dias anteriores (teste de pré-movimentação), de acordo com as regras estabelecidas no manual produzido pela DGAV sobre esta matéria.

- o estatuto sanitário oficialmente indemne (T3) é suspenso (T3S) nas seguintes situações (DGAV, 2015a):

- a) por qualquer motivo considerado pertinente para a luta contra a tuberculose;
- b) sempre que o plano não esteja a ser cumprido;
- c) se o Inquérito Epidemiológico (IE) determinar a possibilidade de infeção;
- d) quando não estão reunidas condições para ser considerado oficialmente indemne;
- e) se forem detetados animais com IDTc positiva;
- f) em consequência da deteção de lesões suspeitas no exame de rotina em matadouro (inspeção *post mortem*).

A deteção de lesões suspeitas de Tuberculose bovina no matadouro implica a comunicação do caso à DGAV através do modelo de DDO (Doença de declaração obrigatória), que é inserido na base de dados SIPACE (DGAV, 2015a).

- o estatuto sanitário oficialmente indemne (T3) é retirado sempre que a presença de *Mycobacterium bovis* seja confirmada por isolamento do agente em exame bacteriológico ou por observação de lesões características ou compatíveis com tuberculose em exame histopatológico, passando o efetivo a ser classificado com o estatuto não indemne infetado (T 2.1).

- são considerados não indemnes, os efetivos não indemnes infetados (T2.1) e os efetivos não indemnes em saneamento (T2) que correspondem a efetivos T2.1 com resultados negativos em 3 testes sucessivos após o abate do último animal positivo (um teste 42 dias após o abate e mais dois com intervalo de 60 dias).

Nos efetivos oficialmente indemnes de tuberculose bovina (T3), de acordo com os indicadores da região e avaliação de risco efetuada, a metodologia de aplicação do teste IDTc é a seguinte (DGAV, 2015a):

- a) como teste de rotina para manutenção de estatuto sanitário, sendo determinados os animais a testar pelas regras descritas no programa;
- b) como teste de pré-movimentação (TPRM), sendo testados todos os animais a movimentar com mais de 12 meses de idade.

Nos efetivos não indemnes a metodologia aplicada é (DGAV, 2015a):

a) nos efetivos confirmados como infetados com tuberculose (T2.1), são testados todos os bovinos do efetivo com mais de 6 semanas de idade, 42 dias após a retirada do último animal com reação positiva. Não ocorrendo mais reações positivas prossegue-se efetuando mais dois testes consecutivos com um mínimo de 60 dias de intervalo, a todos os bovinos da exploração com mais de 6 semanas de idade. Se todos os resultados obtidos nestes últimos testes forem negativos o efetivo passa para não indemne em saneamento (T2).

b) nos efetivos não indemnes em saneamento (T2), todos os bovinos da exploração com idade superior a 6 semanas, são testados no intervalo de 6 meses após a atribuição do

estatuto T2. Se todos os bovinos reagirem negativamente a este teste o efetivo adquire estatuto oficialmente indemne de tuberculose (T3).

Em paralelo às medidas de erradicação e em reforço da manutenção do estatuto dos efetivos oficialmente indemnes, para além dos resultados das provas de diagnóstico em vida, também a deteção de lesões suspeitas de tuberculose no exame de rotina em matadouro (inspeção *post mortem*) desencadeia a tomada de medidas na exploração. Por conseguinte, são colhidas amostras para diagnóstico laboratorial (histopatológico e bacteriológico) e é efetuada a investigação das explorações em que o animal esteve presente. Em consequência, nas explorações identificadas, todos os bovinos com mais de 6 semanas de idade são submetidos a IDTc. Se forem detetados animais com reação positiva são acionados os procedimentos já descritos (DGAV, 2015a).

No âmbito do presente programa são considerados casos positivos (DGAV, 2015a):

- a deteção de lesões suspeitas no exame de rotina em matadouro (inspeção *post mortem*);
- os animais com resultado positivo na prova de IDTc;
- os animais com resultado positivo na prova de IFN- γ .

A tuberculose bovina é uma doença de declaração obrigatória (anexo I) desde 1953, pelo que faz parte do quadro nosológico anexo ao Decreto-lei n.º 39 209, de 14 de maio de 1953, sendo expressamente proibido qualquer tratamento dessensibilizante, terapêutico e imunoprolático. Esta obrigatoriedade é reforçada pelo Decreto-lei n.º 272/2000 de 8 de novembro. A notificação é acionada sempre que (DGAV, 2015a):

- tenham sido detetadas lesões suspeitas no exame de rotina em matadouro (inspeção *post mortem*), sendo efetuado um registo próprio na base de dados da inspeção sanitária (SIPACE) da DGAV, que emite a notificação para a DSAVR em modelo próprio, o diagrama de processo das responsabilidades das diferentes entidades pode ser observado na figura 3;
- mediante resultados positivos no teste de diagnóstico em vida, sendo a comunicação desencadeada pelo médico veterinário responsável (OPP) com destino aos serviços veterinários (DSAVR).

O aparecimento de animais positivos em explorações oficialmente indemnes implica a suspensão imediata da classificação sanitária, emissão de sequestro sanitário e realização de inquérito epidemiológico (DGAV, 2015a).

De acordo com o estatuto sanitário do efetivo as possibilidades de movimentação são as seguintes (DGAV, 2015a):

- animais provenientes de explorações oficialmente indemnes (T3) podem circular da sua exploração para outra exploração com o mesmo estatuto sanitário, cumprindo as determinações relativas aos testes de pré-movimentação, acompanhados de declaração de deslocação, emitida pelo próprio detentor e com obrigatoriedade de comunicação ao SNIRA;
- os animais provenientes de explorações com estatuto oficialmente indemne suspenso

(T3S), não indemne em saneamento (T2) e não indemne infetado (T2.1), encontrando-se em sequestro sanitário, efetuam apenas as seguintes movimentações:

a) movimentação com destino a abate imediato sob controlo oficial desde que acompanhados por uma guia de circulação para abate imediato emitida pelos serviços veterinários;

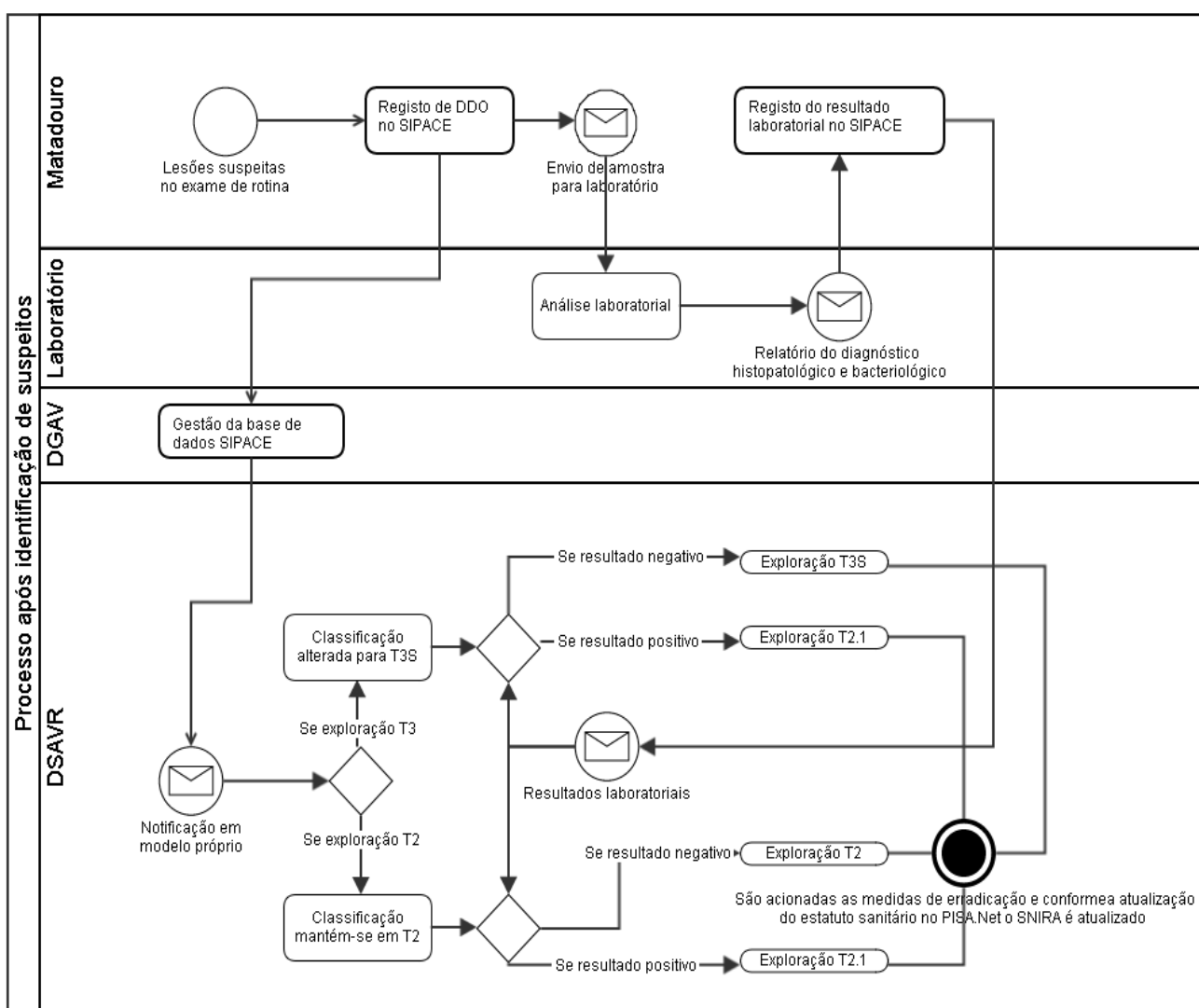
b) para exploração de engorda, devidamente autorizada pela DSAVR da área de destino para receção dos animais, sendo este movimento efetuado sob as seguintes condições:

1 – autorização formal da DSAVR de origem e da DSAVR de destino;

2 – realização prévia, com resultado negativo, de uma prova de IDTc nos animais a movimentar, que assim se designa como teste de avaliação de risco (TAR) e que fica registado no passaporte dos bovinos (PB) a movimentar e no PISA.Net;

3 – emissão pela DSAVR da área de exploração de origem de uma guia sanitária de circulação, tendo os animais sempre e obrigatoriamente como destino final o abate.

Figura 3 – Diagrama de processo após identificação de lesões típicas de tuberculose bovina em matadouro, DGAV, 2015^a.



Legenda: DGAV – Direção Geral de Alimentação e Veterinária; DSAVR – Direção de serviços de alimentação e veterinária regionais; DDO – Relatório de inspeção sanitária declaração de doença obrigatória; SIPACE – Base

de dados dos serviços veterinários oficiais; T3 – Oficialmente indemne; T3S – Oficialmente indemne suspenso; T2 – Em saneamento; T2.1 – Efetivo infectado.

Na sequência da deteção de um bovino com reação positiva as DSAVR são informadas e desencadeiam o abate sanitário. O destino da carcaça é determinado pelo inspetor sanitário do matadouro em função do quadro lesional observado na inspeção *post mortem*. O aparecimento de animais positivos em explorações oficialmente indemnes implica a suspensão imediata da classificação sanitária, emissão de sequestro sanitário e realização de um inquérito epidemiológico (DGAV, 2015a).

II – Parte Experimental

8. Materiais e Métodos

8.1. População em estudo

Para a realização do presente estudo foram compiladas todas as informações que constam em todos os relatórios de inspeção que registam casos suspeitos de doenças de declaração obrigatória (DDO), referentes aos abates normais de bovinos para consumo humano efetuados em todos os matadouros do território português, entre 1 de janeiro e 31 de Dezembro de 2014.

Os relatórios foram assinados pelo Veterinário Oficial em serviço no matadouro onde os abates foram realizados e foram inseridos na base de dados SIPACE, à qual têm acesso as Direção de Serviços Veterinários Regionais (DSVR) e a Direção de Serviços de Segurança Alimentar (DSSA), que reúne no seu sistema todas as informações relativas aos abates de todo o país. Assim sendo, não foi efetuado nenhum método de amostragem porque o estudo foi aplicado a toda a população de bovinos com lesões suspeitas de tuberculose, apresentados para abate normal, que tiveram amostras enviadas para laboratório por suspeita de tuberculose bovina.

Do presente estudo fazem parte os bovinos abatidos em abate normal nos matadouros portugueses no ano de 2014 e que foram considerados suspeitos de estarem atingidos por tuberculose por apresentarem na inspeção *post mortem* lesões macroscópicas compatíveis com as de tuberculose. Os 73 bovinos suspeitos de tuberculose estiveram na origem de um número igual de relatórios de “doença de declaração obrigatória” (DDO).

Sempre que eram detetadas lesões suspeitas de tuberculose, o Veterinário Oficial procedia à recolha de amostras, acondicionava-as e identificava-as de acordo com instruções da DGAV. As amostras provenientes de animais abatidos em Portugal continental foram encaminhadas para o Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), enquanto no caso do bovino abatido nos Açores, as amostras recolhidas foram enviadas e examinadas no Laboratório Regional de Veterinária (LRV).

Dos 73 bovinos suspeitos de tuberculose enviaram-se amostras para exames laboratoriais – histopatológico e bacteriológico - de apenas 69 animais. As amostras de 4 animais suspeitos não foram submetidas a análise laboratorial porque a exploração de origem se encontrava em saneamento (T2) ou infetada (T2.1).

Consideraram-se como positivos à tuberculose os bovinos cujas amostras revelaram ser positivas quer nos 2 exames laboratoriais (histopatológico e bacteriológico) quer em apenas um desses exames.

8.2. Métodos

Para a realização deste trabalho foi necessária a criação de uma base de dados utilizando o programa Microsoft Office Excel 2010. Numa primeira fase foram inseridos os dados presentes nos relatórios de inspeção sanitária referentes aos casos com lesões suspeitas de tuberculose bovina.

Os dados recolhidos de cada modelo foram: número da DDO, a exploração de origem, o estatuto sanitário da exploração de acordo com o programa de erradicação da tuberculose bovina (quando presente), o número de identificação do bovino, sexo, raça, idade (meses), as lesões macroscópicas observadas, a decisão sanitária e o resultado dos exames laboratoriais (bacteriológico e histopatológico). Numa segunda fase, para completar a base de dados foi necessário recorrer ao *software* do SNIRA, onde através do número de identificação dos bovinos, se recolheram os dados referentes ao histórico de movimentos dos animais, registando a data de nascimento, as explorações por onde passaram, assim como a data de chegada e partida em cada uma delas.

Tabela 5 – Região anatómica atribuída a cada localização de lesão.

Lesão	Região Anatómica
Linfonodos retrofaríngeos Linfonodos mandibulares Linfonodos parotídeos	Cabeça
Pulmões Pleura Linfonodos brônquicos Linfonodos mediastínicos Linfonodos traqueais	Torax
Trato gastrointestinal Linfonodos gástricos Linfonodos mesentéricos	Trato gastrointestinal
Baço	Baço
Fígado Linfonodos hepáticos	Fígado
Rins Linfonodos renais	Rim
Peritoneu	Peritoneu
Órgãos genitais Linfonodos retro mamários Mama	Órgãos genitais Glândula mamária
Linfonodos poplíteos Linfonodos cervicais superficiais (pré- escapulares) Linfonodos axilares Linfonodos subilíacos (pré-crurais)	Linfonodos periféricos
Pele	Pele

No que diz respeito às lesões, devido à grande variedade de localizações e de padrões lesionais encontrados, e por forma a avaliar a dispersão da doença de uma forma mais simples e sistemática, foram consideradas 11 regiões anatómicas distintas (Tabela 5).

Para verificar a existência de associações entre a aptidão produtiva e o resultado laboratorial, as raças foram agrupadas em duas aptidões - leite e carne (Tabela 6).

Tabela 6 – Aptidão produtiva atribuída a cada raça.

Raça	Aptidão Produtiva
Cruzada Mertolenga Maronesa Alentejana Brava	Carne
Jersey Frísia	Leite

Na análise das informações referentes ao histórico dos animais, foi possível agrupar os animais quanto à sua região de nascimento, à região da exploração que enviou o animal para abate e à região da exploração onde o animal viveu a maior parte da sua vida. As regiões consideradas foram aquelas onde foram abatidos bovinos: Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo, Açores e Madeira. Estas regiões baseiam-se nas NUT 2 (Nomenclatura das Unidades Territoriais para fins estatísticos) segundo o Decreto-lei 244/2002.

Foi possível obter o número de movimentos por animal, o que equivale ao número de explorações pelas quais passou.

As variáveis consideradas para o estudo foram as seguintes:

1. informação referente à inspeção *post mortem*: tipo de lesão, localização das lesões, localização das lesões por região e decisão sanitária;
2. informação referente aos animais: idade, sexo, raça e aptidão;
3. histórico da movimentação dos animais: número de movimentos por animal, região da exploração de nascimento, região da exploração que enviou o animal para abate e região da exploração onde o animal viveu durante mais tempo.

8.3. Análise Estatística

Este trabalho teve como base um estudo retrospectivo aplicado ao ano de 2014, entre 1 de janeiro de 2014 e 31 de dezembro de 2014, sendo o *software* Microsoft Office Excel 2010 o programa utilizado para a criação da base de dados e o *software* R i386 3.2.1 foi o escolhido para o estudo de hipóteses.

Neste trabalho a análise estatística incidu sobre estatística descritiva, onde foram utilizadas medidas de tendência central, tais como a média, e medidas de dispersão tais como o desvio padrão. Foi verificado para cada uma das variáveis consideradas se a distribuição dos animais consoante o exame laboratorial (positivo ou negativo) diferia do acaso, utilizando para tal o teste estatístico do qui-quadrado, tendo-se verificado para os casos onde se verificou associação entre variáveis o *Odds Ratio* (razão de probabilidades). Quando necessário, de forma a verificar se a diferença entre as médias dos grupos em estudo eram significativas, recorreu-se ao teste não paramétrico de *Wilcoxon-Mann-Whitney* para 2 amostras independentes. Recorreu-se a este teste porque os dados em estudo (número de regiões com lesão e número de movimentos) não obedeceram a uma distribuição normal.

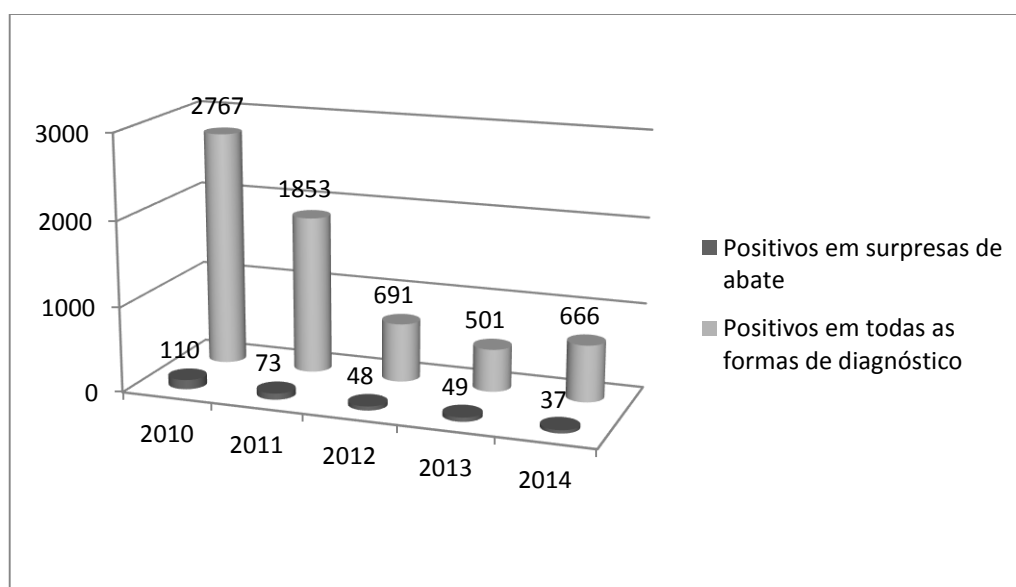
Para os efeitos estatísticos, o nível de significância considerado foi de 5%.

9. Resultados e Discussão

9.1. Inspeção *post mortem*

Os resultados laboratoriais referentes a 69 bovinos suspeitos de tuberculose revelaram 37 positivos e 32 negativos. O número de casos de bovinos com lesões suspeitas de tuberculose tem vindo a descer desde o ano de 2010, com exceção do ano 2013 onde houve uma pequena subida, em que foram registados 110 bovinos com lesões suspeitas (Gráfico 1). Com a diminuição do número de animais positivos encontrados ao longo dos anos a importância dos animais positivos detetados na necropsia tem vindo a aumentar ligeiramente. Os 37 bovinos positivos identificados a partir do envio de amostras de lesões suspeitas de Tuberculose bovina, representam aproximadamente 6% dos bovinos infetados detetados no ano de 2014 pelos serviços veterinários, no ano de 2010 esses animais representavam 4% de todos os animais positivos detetados (DGAV, 2015b).

Gráfico 1 – Total de bovinos positivos a tuberculose e bovinos positivos detetados na necropsia, em Portugal, entre 2010 e 2014.



Fonte: Adaptado de Relatórios Técnicos de Sanidade Animal. DGAV, 2015a.

A quantidade (%) de bovinos infetados (53,6%) que tinham lesões suspeitas na necropsia em Portugal em 2014 foi inferior aos valores registados (62,7%) entre 2001 e 2013 no Reino Unido e na Republica da Irlanda (Broughan, Brouwer & Upton, 2015).

O número de bovinos que apresentam lesões sugestivas de tuberculose, provenientes de explorações onde não há registo de resultados positivos às provas de IDTc, pode ser um indicador do grau de eficácia do plano de erradicação. É no entanto provável que o número de bovinos infetados seja superior ao detetado, uma vez que, apenas 50% dos animais infetados são detetados na inspeção *post mortem* das carcaças (Quinn *et al.*, 2002). O

número de animais suspeitos engloba um grande número de animais que não contactaram com o agente, pois existem granulomas não-tuberculosos que são macroscopicamente indistinguíveis dos granulomas tuberculosos (OIE, 2009).

Estas surpresas de matadouro são importantes no plano de erradicação porque permitem ao serviços veterinários identificar as explorações pelas quais o animal passou e desencadear os mecanismos previstos no plano de erradicação da tuberculose bovina, de forma a identificar quais os focos de infeção. Em 2012, no Reino Unido 14,3% (702/4919) dos novos casos de explorações infetadas foram detetados durante a inspeção *post mortem* (Broughan *et al.*, 2015).

9.1.1. Tipo de lesão

A lesão tuberculosa aparece, geralmente, com uma cor amarelada, podendo apresentar uma consistência caseosa, caseo-calcária e calcificada (Quinn *et al.*, 2002; Hirsh & Zee, 2003; Coetzer & Tustin, 2004). A calcificação distrófica da lesão é indicadora de alguma cronicidade do processo, uma vez que só ocorre após o estabelecimento do núcleo central caseoso (Quinn *et al.*, 2002).

Nos relatórios de inspeção dos animais examinados foram descritos dois tipos de lesão quanto à consistência: caseo-calcária (50) e caseosa (19). Dos 50 animais em que a lesão já apresentava calcificação distrófica, 32 (64%) foram positivos. Dos animais que apresentavam lesão caseosa (19), apenas 5 (26,3%) foram considerados positivos ao exame laboratorial (tabela 7). Assim, foi encontrada uma associação entre o tipo de lesão e o resultado laboratorial, em que um animal que apresente uma lesão do tipo caseo-calcária apresenta um *Odds ratio* de 4,8 de ser positivo ao exame laboratorial.

Tabela 7 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente por tipo de lesão.

Tipo de lesão	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Caseosa	5 (26,3%)	14 (73,7%)	19
Caseo-calcária	32 (64%)	18 (36%)	50

9.1.2. Localização das lesões

Na população em estudo (n=69), foram registadas 95 lesões distribuídas em 11 localizações diferentes (Tabela 8), o que significou uma média de 1,38 lesões por animal, com um intervalo de confiança 95% [1.059 - 1.845]. A maior parte das lesões localizaram-se nos linfonodos mediastínicos, brônquicos, retrofaríngeos e no pulmão, onde se registaram 82,1% das lesões. Este valor é próximo do obtido por Jesus (2013) em bovinos destinados a abate

sanitário, provenientes de explorações ou em saneamento (T2) ou infetadas (T2.1), em que 75% das lesões se localizavam naqueles linfonodos e no pulmão. É de salientar que o presente estudo só abrange os bovinos com tuberculose provenientes de explorações indemnes e portanto sujeitos a abate normal, o que difere do estudo realizado por Jesus (2013).

Tabela 8 – Distribuição dos animais positivos e negativos laboratorialmente pela localização das lesões.

Localização	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos (%)	p-value	Odds ratio
Linfonodos mediastínicos	21(95,5%)	1(4,5%)	22 (38,8%)	<0,05	38.613
Linfonodos brônquicos	19(90,5%)	2(9,5%)	21 (30,4%)	<0,05	15.208
Linfonodos retrofaríngeos	15(83,3)	3(16,7%)	18 (26,1%)	0.003	6.418
Pulmão	13(76,5%)	4(23,5%)	17 (24,6%)	0.030	3.721
Linfonodos mesentéricos	3(75,0%)	1(25,0%)	4 (5,8%)	0.377	
Linfonodos hepáticos	3(100%)	0(0%)	3 (4,3%)	0.100	
Fígado	3(100%)	0(0%)	3 (4,3%)	0.243	
Linfonodos submaxilares	2(66,7%)	1(33,3%)	3 (4,3%)	0.643	
Linfonodos gástricos	2(100%)	0(0%)	2 (2,9%)	0.182	
Pleura	1(100%)	0(0%)	1 (1,4%)	0.349	
Peritoneu	1(100%)	0(0%)	1 (1,4%)	0.349	

Apenas localizações onde foram registadas lesões estão presentes na tabela 8.

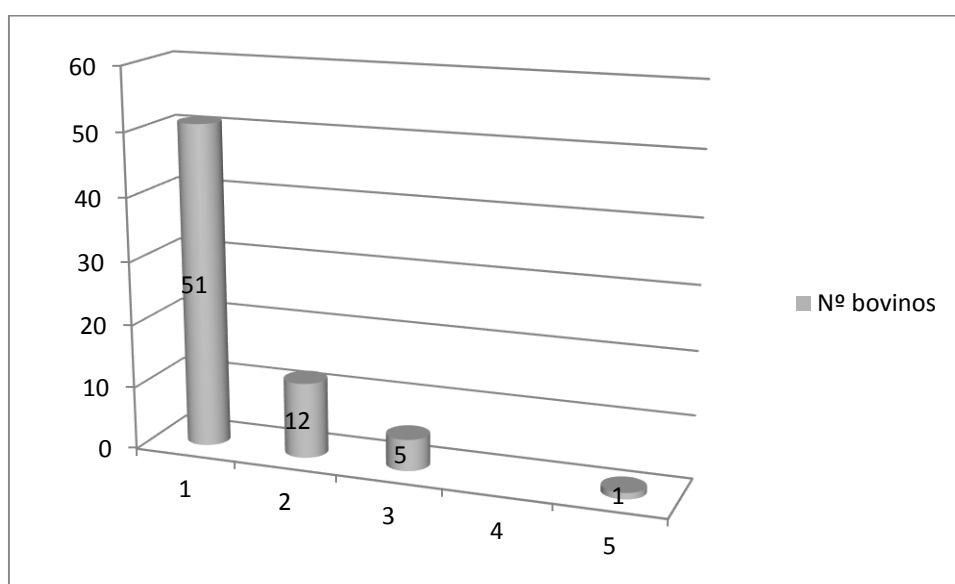
Foi encontrada associação entre a presença de lesões nos linfonodos mediastínicos, brônquicos, retrofaríngeos ou no pulmão e o resultado positivo do exame laboratorial. Para estas quatro localizações de lesão foi calculada a razão de probabilidades (*Odds ratio*) de ser positivo (Tabela 8) e verificou-se que os animais que têm uma lesão nos linfonodos mediastínicos são aqueles em que maiores são as probabilidades terem sido infetados pelo agente da tuberculose bovina.

As lesões localizadas no trato gastrointestinal foram pouco frequentes, representando 14% das lesões registadas. Este valor foi ligeiramente superior ao referido por Jesus (2013), o qual foi de 12,5%. Estas localizações são raras e normalmente são consequência ou de disseminação por via hemática ou de contaminação por via oral a partir de descargas do trato respiratório (OIE, 2009; Quinn *et al.*, 2002).

9.1.3. Regiões anatômicas com lesões

Nos 69 bovinos em estudo identificaram-se 94 lesões suspeitas de serem de tuberculose em 7 regiões anatômicas (Tabela 9), após identificação das lesões com a região de ocorrência, o que significou em média 1,37 regiões com lesão por animal, com um intervalo de confiança 95% [1.194 -1.546]. Verificou-se que, dos 69 bovinos, 51 (74%) tiveram lesões em apenas uma região anatômica (Gráfico 2) e que apenas 6 animais (9%) tiveram 3 ou mais regiões afetadas.

Gráfico 2 – Distribuição de animais em função do número de regiões anatômicas afetadas.



A maior parte dos animais apresentaram lesões na região “Tórax”, com um total de 49 bovinos (71%). A região “Cabeça” foi a segunda mais frequentemente afetada com lesões, com um total de 31 bovinos (45%) (Tabela 9). Estas regiões surgem como as mais frequentemente atingidas, pois englobam as 4 localizações mais frequentemente afetadas por lesões, sendo que animais houveram que apresentaram lesões nas duas regiões. Como referido anteriormente, isto acontece porque a principal via de transmissão do agente é a aerógena, sendo estas localizações o local da infecção (Quinn *et al.*, 2002; Hirsh & Zee 2003; Coetzer & Tustin, 2004). Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Jesus (2013), em que as regiões “Cabeça” e “Torax” foram também as regiões mais frequentemente afetadas.

Apenas se verificaram 12 lesões nas regiões “Fígado”, “Trato gastrointestinal” e “Linfonodos periféricos” (Tabela 9). Estas lesões em localizações menos comuns podem significar duas coisas: o animal pode ter sido infetado por via oral (muito raro), ou o processo já estar generalizado, tendo-se disseminado a partir do complexo primário pela via hemática (Coetzer & Tustin, 2004).

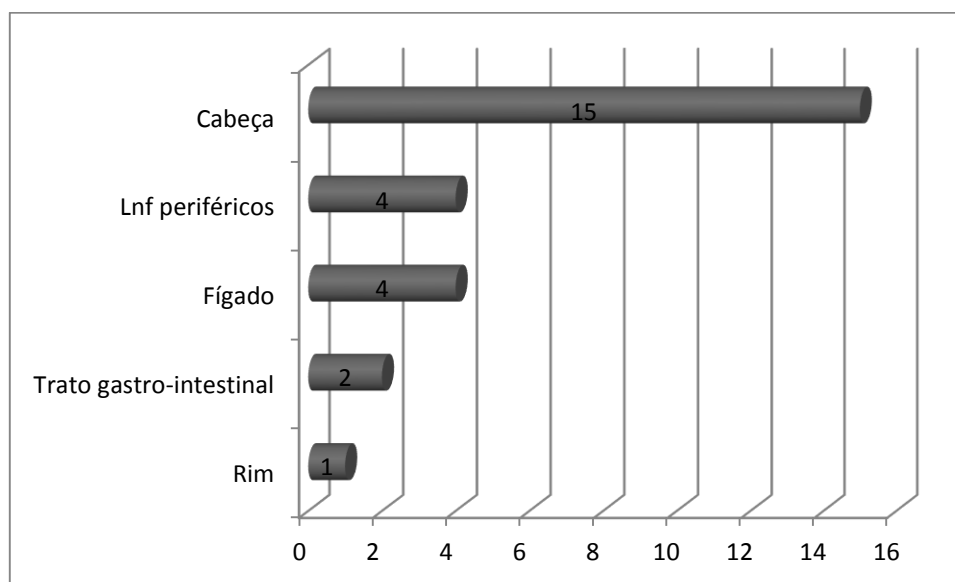
Tabela 9 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente por região anatômica com lesão.

Região	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Tórax	27(55,1%)	22(44,9%)	49
Cabeça	19(61,3%)	12(38,7%)	31
Fígado	4(80%)	1(20%)	5
Linfonodos periféricos	3(75%)	1(25%)	4
Trato gastrointestinal	2(66,7%)	1(33,3%)	3
Rim	1(100%)	0	1
Peritoneu	1(100%)	0	1

Não foi possível encontrar uma associação entre região com lesão e o resultado do exame laboratorial, sendo de realçar que mais de metade dos animais positivos apresentou lesões em pelo menos uma das seguintes regiões “Cabeça” ou “Tórax”.

Dos 49 animais com lesões no “Torax”, 31 (45%) não apresentaram lesões em mais nenhuma região anatômica. Entre os 18 que apresentaram lesões em mais do que uma região, 15 apresentaram lesões na região “Cabeça” (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Distribuição de animais por outras regiões com lesão para além de lesão na região “Tórax”



9.1.4. Decisão sanitária

Dos 69 animais que entraram neste estudo, em apenas 14 (20,3%) a decisão sanitária não foi conhecida. Tal provavelmente aconteceu porque os Veterinários Oficiais colocaram as carcaças em observação enquanto esperavam pelo resultado do exame

laboratorial e quando obtiveram os resultados laboratoriais não atualizaram o campo da decisão sanitária nos relatórios de inspeção introduzidos no SIPACE.

Assim, dos 55 bovinos com decisão sanitária conhecida, 21 (38,1%) foram totalmente reprovados e em 34 (61,9%) reprovou-se a parte afetada (reprovação parcial), nomeadamente a cabeça, as vísceras e os linfonodos inspecionados. É importante referir que deste grupo de animais fazem parte os que não foram positivos ao exame laboratorial, no entanto essa informação não existia à data da decisão.

Os animais que foram totalmente reprovados tiveram em média mais regiões afetadas (1,85) do que os animais sujeitos a reprovação parcial (1,11) (Tabela 10). Há diferenças significativas ($p < 0,05$) nas médias de regiões afetadas, nos dois grupos considerados.

Estes resultados foram de encontro às recomendações da DGAV sobre a decisão sanitária, segundo as quais as carcaças de animais com lesões em apenas uma única região devem ser aprovadas para consumo humano e as carcaças de animais com lesões em mais do que uma região devem ser consideradas impróprias para consumo humano (DGV, 2011a)

Depois de conhecida a fisiopatogenia da tuberculose (Nieberle, 1938) foi possível aos patologistas veterinários definir com maior rigor os critérios de inspeção, fundamentados na possibilidade de contaminação da musculatura dos bovinos tuberculosos por *Mycobacterium bovis*. De acordo com essas bases, na generalização precoce, na forma miliar aguda e no colapso da resistência, a probabilidade da presença de *Mycobacterium* no tecido muscular é tão elevada e frequente que se pode considerar constante, o que deve conduzir a uma reprovação total da carcaça, enquanto no complexo primário, na generalização arrastada lenta, com focos encapsulados e calcificados, na tuberculose orgânica isolada, a presença do agente no músculo é excecional, resultando na reprovação parcial (Bernardo, 2013).

É importante registar que segundo o plano de erradicação da tuberculose bovina para 2015 elaborado pela DGAV, o destino da carcaça é determinado pelo inspetor sanitário do matadouro em função do quadro lesional observado (DGAV, 2015a).

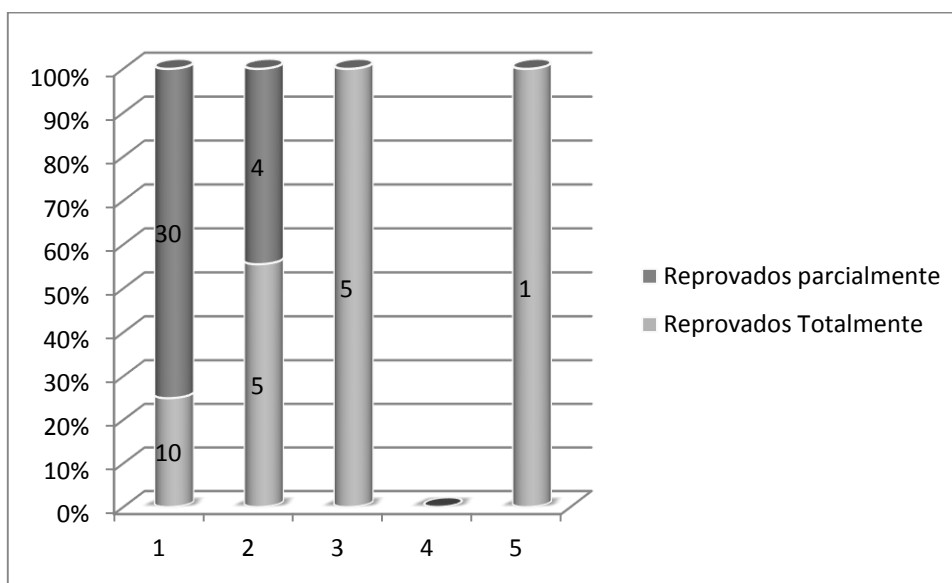
Tabela 10 – Regiões afetadas em função da decisão sanitária.

Decisão sanitária	Média de regiões afetadas	Intervalo confiança 95%	Nº suspeitos
Reprovação parcial	1,12	1,00 – 1,23	34
Reprovação total	1,86	1,33 – 2,38	21

Os 6 animais com 3 ou mais regiões com lesões compatíveis com as de tuberculose foram declarados impróprios para consumo humano. Dos 9 bovinos com decisão sanitária conhecida e que tinham duas regiões afetadas por aquele tipo de lesões, 5 (55,5%) foram totalmente reprovados e 4 (44,5%) foram reprovados parcialmente. No caso de bovinos onde apenas uma região se encontrava afetada, a reprovação parcial (75%) prevaleceu sobre a total (25%) (Gráfico 3).

Em teoria, o consumo de carne crua ou mal cozinhada proveniente de animais infetados, pode ser uma fonte de infeção por *M. bovis* para os seres humanos. No entanto, é muito pouco provável a carne ser um veículo de infeção. No Reino Unido, as carnes de animais em que a doença se encontra disseminada são totalmente reprovadas, enquanto as carnes de animais com lesões localizadas são parcialmente reprovadas durante a inspeção *post mortem*. A reprovação parcial da carcaça, com remoção das zonas afetadas, pode permitir a permanência do agente na carcaça, porque apesar de serem removidas as zonas com lesões visíveis, a restante carcaça pode ser afetada por contaminações cruzadas. Mesmo nestes casos o risco para os humanos não é grande, uma vez que um tratamento térmico normal eliminaria o agente (Walsh & Morgan, 2014).

Gráfico 4 – Decisão sanitária em função do número de regiões anatómicas afetadas.



Em relação ao destino das carcaças com mais do que uma região afetada o desfecho expetável era a reprovação total, o que se verificou na maioria dos casos. No caso de carcaças de animais com apenas 1 região afetada, 10 (25%) foram reprovadas totalmente, o que poderá ser explicado pelo carácter crónico e debilitante da tuberculose bovina, capaz de afetar a condição corporal do animal a vários níveis (Coetzer & Tustin, 2004).

Além do número de lesões a identificação da natureza das lesões a sua localização e extensão, podem permitir determinar a fase evolutiva em que a doença se encontra, em que

têm lugar as sempre efêmeras passagens dos bacilos da tuberculose pela corrente circulatória; isto é, pelo exame das lesões poderemos saber se a doença se encontra ou não em fase de generalização, na altura de abate. Certamente que a carne de um animal abatido durante essa fase é a mais perigosa para o consumidor, devendo ser reprovada totalmente (Bernardo, 2013).

9.2. Informação relativa aos animais

9.2.1. Idade

Os bovinos em estudo apresentaram uma idade média em meses de 54,7, com um intervalo de confiança de 95% [42,10 – 67,22], o que corresponde a 4 anos e 7 meses. O bovino mais novo tinha 1 mês e o mais velho tinha 212 meses, o que corresponde a 17 anos e 8 meses. A distribuição dos animais por idades pode ser observada com mais detalhe na tabela 11, onde foram agrupados em grupos etários.

Tabela 11 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente por grupos etários.

Idade em meses	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
[0;6]	1(50%)	1(50%)	2
]6;18]	11(40,7%)	16(59,3%)	27
]18;48]	9(56,2%)	7(43,8%)	16
]48;+ [∞] [16(66,6%)	8(33,3%)	24

Não foi possível encontrar associação entre a idade do animal e o resultado dos exames laboratoriais. Verificou-se que 67 (97,1%) animais suspeitos de tuberculose tinham mais de 6 meses e que foi no grupo dos animais com idades entre os 6 e os 18 meses que se registou maior número de casos, 27 (39,1%). No grupo dos animais com menos de 6 meses apenas se registaram 2 (2,9%) casos suspeitos de tuberculose.

A probabilidade de um animal ter sido exposto ao agente aumenta com a idade, pois potencialmente o animal teve mais tempo de exposição ao agente, como ficou demonstrado em estudos realizados na Zâmbia e Tanzânia (Humblet *et al*, 2009).

Em 1996, num estudo realizado na Irlanda que incluiu mais de 2.000 bovinos, os autores concluíram que era menos provável que os bovinos jovens fossem positivos à prova de IDTc do que os animais adultos. Não significando isto que os animais jovens não se possam infetar, mas sugere que *Mycobacterium bovis* tem capacidade de se manter em estado de latência até à sua reativação na idade adulta (Humblet *et al.*, 2009).

Assim, observando os resultados obtidos, apesar de não se ter encontrado uma associação significativa, verificou-se que o grupo de animais com mais de 48 meses foi o que reuniu maior número de positivos (16) o que corresponde a 43,2% dos animais positivos. Resultado

concordante com o obtido num estudo realizado por Moaine *et al.* (2014) em Moçambique, onde se concluiu que nos animais com mais de 4 anos de idade havia maiores probabilidades de resultados positivos ao teste IDTc.

9.2.2. Sexo

Foi possível obter a informação referente ao sexo de todos os animais em estudo, 40 (58%) eram do sexo feminino e 29 (42%) do sexo masculino (Tabela 12).

Tabela 12 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente por sexo.

Sexo	Nº positivos (%)	Nº negativos (n%)	Nº suspeitos
Fêmea	22(55%)	18(45%)	40
Macho	15(51,7%)	14(48,3%)	29

Não foi possível encontrar uma associação entre o género do animal e o resultado do exame laboratorial (Tabela 13). Verificou-se que nos dois géneros a quantidade de positivos foi próxima de 50%.

A influência do género na suscetibilidade de uma infeção por *M. bovis* não está comprovada. O sexo apenas foi referido como fator de risco para a infeção por *Mycobacterium bovis* em estudos realizados em Africa. Um estudo realizado na Tanzânia entre 1994 e 1997 revelou que os machos eram significativamente mais afetados pela tuberculose bovina do que as fêmeas (Kazwala *et al.*, 2001). Num estudo realizado no Uganda em 2007, é referido que nas fêmeas o número de casos positivos ao teste IDTc é significativamente maior do que nos machos (Humblet *et al.*, 2009).

Estes resultados discordantes são provavelmente explicados pelas diferenças que existem na vida produtiva de machos e fêmeas, que variam consoante o sistema produtivo e os hábitos locais onde estão inseridos os animais. Enquanto em países em desenvolvimento os machos são muitas vezes usados como animais de trabalho, vivendo em média mais do que as fêmeas, em países desenvolvidos as fêmeas, devido à sua função como reprodutoras e produtoras de leite, atingem em média idades mais avançadas do que os machos (Humblet *et al.*, 2009).

9.2.3. Raça e aptidão

Em todos os bovinos com lesões suspeitas de tuberculose que tiveram amostras enviadas para o laboratório foi possível apurar a raça. Registaram-se 7 raças nos animais em estudo (Tabela 13), sendo que apenas 2 (Frísia e Jersey) são de aptidão leiteira. De entre as 5 que têm aptidão “Carne”, 4 são autóctones e a quinta pertence aos “Cruzados de carne”.

Tabela 13 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente por raça.

Raça	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Cruzada	26(47,3%)	29(52,7%)	55
Maronesa	6(100%)	0(0%)	6
Frísia	1(33,3%)	2(66,7%)	3
Alentejana	2(100%)	0(0%)	2
Jersey	0(0%)	1(100%)	1
Brava	1(100%)	0(0%)	1
Mertolenga	1(100%)	0(0%)	1

Não se encontrou associação entre a raça do animal e o resultado dos exames laboratoriais. A maior parte dos animais (80%) eram de raça “Cruzada”, representando as outras 6 raças apenas 20% dos animais em estudo (Tabela 12). A raça “Maronesa” com 6 casos suspeitos de tuberculose (9%) foi a segunda mais representada, de notar que desta raça todos os animais suspeitos foram positivos aos exames laboratoriais.

Apesar de, neste estudo, não se terem encontrado diferenças entre raças, de acordo com Humble *et al.*, (2009), a resistência genética à infeção por *M. bovis* é uma hipótese muito válida e que ainda não foi convenientemente estudada. Existem mecanismos de imunidade não específicos que podem eliminar o agente, como: a produção de muco brônquico, o aumento da eficiência do transporte mucociliar e a presença macrófagos no pulmão.

Após a caracterização dos animais em relação à aptidão, consoante a raça registada, verificou-se que 65 (94%) animais tinham aptidão para a produção de “Carne” (Tabela 14) e 4 (6%) aptidão para a produção de “Leite”. Além disso, verificou-se que 36 (97,3%) dos 37 animais positivos tinham aptidão “Carne”. Não se verificou associação entre a aptidão produtiva do animal e o resultado dos exames laboratoriais, provavelmente porque o número de animais com aptidão “Leite” foi muito baixo, mas ficou claro que a maioria dos animais positivos à tuberculose eram de raças que são utilizadas para a produção de carne.

Tabela 14 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente pela sua aptidão produtiva.

Aptidão	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Carne	36(55,4%)	29(44,6%)	65
Leite	1(25%)	3(75%)	4
Total	37	32	69

Assim como o sexo, não se considera que a raça, por si só, seja um fator de risco para a infeção por *M. bovis* (Humblet *et al.*, 2009). De acordo com Humblet *et al.* (2009), a diferença entre raças na suscetibilidade à infeção está provavelmente relacionada com os sistemas produtivos associados às raças. Por exemplo, animais de raças exóticas são normalmente inseridos em sistemas de produção intensiva, que promovem maior

proximidade entre animais da mesma exploração, enquanto animais autóctones estão geralmente inseridos em sistemas de produção extensiva.

Num estudo realizado por Moaine *et al.* (2014) em Moçambique, verificou-se que a prevalência de tuberculose bovina era mais elevada em regiões onde a agricultura familiar (explorações de pequena dimensão) era a prática comum, do que em regiões onde se concentravam as explorações de grande dimensão. A maior prevalência da doença nas regiões com explorações familiares é, provavelmente, devida ao tipo de gestão dessas explorações, onde a partilha de fontes de água e o contato entre animais de explorações diferentes era comum, promovendo a disseminação da doença (Moaine *et al.*, 2014).

Estas informações estão de acordo com o que foi observado no presente trabalho, uma vez que a grande maioria dos animais positivos (97,3%) tinha como aptidão “Carne” (Tabela 14), o que provavelmente significa que estavam ou estiveram inseridos em explorações onde os animais eram criados em regime extensivo, e é onde, de acordo com o descrito anteriormente, a prevalência da doença tende a ser maior, devido à maior proximidade entre animais de diferentes explorações por partilha de locais de abeberamento ou pastagens e às poucas ou inexistentes medidas de biossegurança presentes.

9.3. Histórico dos animais

9.3.1. Número de movimentos por animal

Verificou-se que os animais positivos passaram, em média, por mais explorações (4,03) que o grupo dos animais negativos (2,53) (Tabela 15). O número de movimentos entre explorações por animal variou entre 1 e 20. Sendo de salientar que, em todos os animais, o último movimento foi para um matadouro.

Tabela 15 – Média do número de movimentos por animal, em função do resultado laboratorial.

Resultado laboratorial	Nº animais	Nº movimentos	Média de movimentos	Intervalo confiança 95%
Positivos	37	149	4,03	2,69 – 5,38
Negativos	32	81	2,53	1,92 – 3,15
Total	69	230	3,68	2,58 – 4,15

Não se verificou uma diferença significativa entre as médias de movimentos dos animais pertencentes aos dois grupos em estudo.

Num estudo realizado no Reino Unido por Gilbert *et al.* (2005) ficou demonstrado que o movimento de animais infetados é um fator de risco muito importante na introdução da doença. Tendo especial impacto se os animais provenientes de zonas com doença forem movimentados para zonas indemnes.

Outro fator importante relacionado com o movimento dos animais é a reintrodução de animais nas explorações, após terem estado em feiras ou mercados, o que constitui um risco elevado de introdução da doença na exploração (Humblet *et al.*, 2009).

Apesar de não existir uma diferença significativa nas médias dos movimentos dos animais positivos e negativos, os animais positivos fizeram em média mais movimentos, o que implica terem estado em mais explorações e portanto sujeitos ao contacto com mais animais de diferentes origens, o que aumenta o risco de exposição ao agente da tuberculose.

Importa referir que, de acordo com o plano de erradicação em vigor, os animais que tenham que ser movimentados para outra exploração, não podem ser provenientes de explorações em saneamento (T2) ou infetadas (T2.1), o que deixa antever que no tempo de permanência dos animais em cada exploração não houve resultados positivos ao teste IDTc ou casos de tuberculose identificados no matadouro. Para além disso o plano de erradicação da tuberculose bovina institui um teste de pré-movimentação nos 30 dias anteriores ao movimento para todos os animais com mais de 12 meses.

9.3.2. Região da exploração de nascimento

De acordo com Humblet *et al.* (2009) a incidência de tuberculose bovina numa dada região está intimamente relacionada com a história da doença nessa área. Provavelmente porque a fonte da doença não foi eliminada e/ou os fatores de risco permanentes dessa região fazem dela particularmente suscetível à recorrência da infeção.

Foi possível apurar a região de nascimento de todos os animais em estudo. Verificou-se que mais de metade dos bovinos (57%) nasceram no Alentejo. Os animais com lesões suspeitas de tuberculose bovina nasceram em todas as regiões de Portugal, à exceção do Algarve que neste momento está declarada como livre da doença. Os dois animais suspeitos nascidos nos Açores, não foram positivos aos exames laboratoriais, significando isto, que todos os animais positivos tiveram origem em Portugal continental ou Espanha (Tabela 16).

Tabela 16 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente pela sua região de nascimento.

Região nascimento	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Alentejo	21(53,8%)	18(46,2%)	39
Norte	8(61,5%)	5(38,5%)	13
Centro	5(62,5%)	3(37,5%)	8
LVT	2(40%)	3(60%)	5
Açores	0(0%)	2(100%)	2
Espanha	1(50%)	1(50%)	2

Não se encontrou associação entre a região de nascimento do animal e os resultados dos exames laboratoriais. No entanto, o facto da maioria dos animais positivos ter nascido no Alentejo vai de encontro às informações divulgadas pela DGAV (2015a), onde se verifica que o Alentejo é a região com indicadores epidemiológicos mais elevados, e da bibliografia consultada (Humblet *et al.*, 2009) que relaciona o histórico da existência da doença numa determinada região com o aparecimento de novos casos.

9.3.3. Região da exploração que enviou o animal para abate

Em todos os animais em estudo foi possível identificar a região da exploração. Na tabela 17, é possível observar que a região que mandou mais animais com lesões suspeitas (26) e positivos ao exame laboratorial (12) foi a região “Norte”. A região de “Lisboa e Vale do Tejo” enviou para abate 11 animais que se vieram a revelar positivos ao exame laboratorial. O único animal proveniente de uma exploração Açoriana, que apresentou lesões suspeitas de tuberculose bovina, foi negativo ao exame laboratorial.

Tabela 17 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente pela região da exploração que enviou o animal para abate.

Região abate	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Norte	12(46,2%)	14(53,8%)	26
Lisboa e Vale do Tejo	11(61,1%)	7(38,9%)	18
Alentejo	7(53,8%)	6(46,2%)	13
Centro	7(63,6%)	4(36,4%)	11
Açores	0(0%)	1(100%)	1

Não se encontrou associação entre a região da exploração que enviou o animal para o matadouro e o exame laboratorial. Estes dados permitem verificar que apesar de a maior parte dos animais em estudo ter nascido no Alentejo, a última exploração por onde passaram não se encontrava nessa região. O que demonstra a existência de movimentos inter-regionais de animais que foram positivos ao exame laboratorial de identificação de tuberculose bovina. Com os dados apresentados não foi possível identificar o momento em que ocorreu a infeção, ou mesmo qual a exploração onde houve maior probabilidade de ter ocorrido.

De acordo com Humblet *et al.* (2009), o regime de produção de uma exploração pode deixar antever o nível de contato entre os animais de produção, o contato com fontes ambientais de infeção e com a vida selvagem. Estas e outras características das explorações dependem do regime de produção, do objetivo da produção, da localização e contexto cultural e tecnológico onde estas se inserem.

9.3.4. Região da exploração onde o animal permaneceu o maior período da sua vida

A análise do histórico de movimentos dos animais permitiu identificar qual a exploração em que o animal permaneceu durante mais tempo. Com essa informação os animais foram agrupados pelas regiões de Portugal. A distribuição de animais positivos pela região onde habitaram mais tempo pode ser consultada na tabela 18.

Tabela 18 – Distribuição de animais positivos e negativos laboratorialmente pela região onde o animal permaneceu mais tempo.

Região onde viveu mais tempo	Nº positivos (%)	Nº negativos (%)	Nº suspeitos
Norte	12(46,2%)	14(53,8%)	26
Lisboa e Vale do Tejo	10(58,8%)	7(42,2%)	18
Alentejo	8(57,1%)	6(42,9%)	14
Centro	7(63,6%)	4(36,4%)	11
Açores	0(0%)	1(100%)	1

Verificou-se que os resultados desta distribuição de animais pelas regiões foram semelhantes aos resultados expressos na tabela 17, referente à região da exploração de onde o animal saiu para o matadouro. Sendo a região “Norte” a que enviou mais animais tanto com lesões suspeitas de tuberculose (26) como com resultados positivos (12) ao exame laboratorial.

Não se encontrou associação entre a região da exploração em que o animal viveu o maior período da sua vida e o resultado dos exames laboratoriais. O exercício de identificar as explorações/regiões onde o animal permaneceu mais tempo é importante, pois o risco de exposição ao agente aumenta paralelamente ao aumento do tempo passado. Assim, esta informação referente ao histórico dos animais pode ser importante para os serviços veterinários, pois poderá ser um indicador de quais os efetivos a ser testados. É provavelmente um melhor indicador da fonte da infeção, do que verificar apenas a exploração que enviou o animal para abate.

11. Conclusão

Os resultados referentes à inspeção *post mortem* de animais que apresentaram lesões sugestivas de tuberculose bovina em Portugal, no ano de 2014, foram semelhantes aos registados em 2013, num estudo realizado em animais provenientes de explorações infetadas, logo sujeitos a abate sanitário. Foram também concordantes com os resultados expectáveis de um país que se encontra num processo, que se espera terminal, do plano de erradicação da tuberculose bovina. Este estudo permitiu realizar associações significativas entre o tipo de lesão, a localização da lesão e o resultado laboratorial para o diagnóstico de tuberculose bovina.

Verificou-se que nos bovinos com lesões suspeitas de tuberculose, a maioria apresentou lesões com consistência caseo-calcária e foram positivos ao exame laboratorial. As lesões dos bovinos positivos localizaram-se maioritariamente nos linfonodos retrofaríngeos, brônquicos, mediastínicos e no pulmão, o que significou que as regiões anatómicas mais afetadas por lesões foram as regiões “Cabeça” e “Tórax”. A decisão sanitária aplicada foi de uma forma geral a reprovação total quando duas ou mais regiões estavam afetadas e reprovação parcial quando apenas uma região se encontrava afetada, sendo importante verificar que, além do número de lesões encontradas, o estado evolutivo das mesmas também deveria ter influência na decisão sanitária a aplicar.

Nos resultados referentes às informações dos animais (idade, sexo, raça e aptidão) verificou-se que a maioria tinha mais de 6 meses e tinha como aptidão a produção de carne. Não se verificou no entanto nenhuma relação entre as variáveis consideradas e o facto do bovino ter contactado com o agente.

Em relação ao histórico dos animais, observou-se que o grupo de animais positivos aos exames laboratoriais realizou em média mais movimentos entre explorações que o grupo dos animais negativos e que a maioria dos animais positivos nasceu numa exploração localizada no Alentejo.

Durante a realização deste trabalho houve dificuldade em obter informações sobre a classificação sanitária, passada e presente, das explorações em estudo, bem como informações referentes ao número de animais e movimentos de entrada de animais em cada exploração.

O matadouro representa um ponto comum à maioria das explorações pecuárias, sendo fundamental na garantia da segurança dos alimentos que chegam aos consumidores. No entanto, as informações recolhidas a este nível são também de grande utilidade para os serviços veterinários responsáveis pela sanidade animal, tendo grande importância no desenrolar da aplicação do programa de erradicação da tuberculose bovina em curso, uma vez que a deteção de animais com doença ao nível do matadouro, despoleta ao nível dos serviços veterinários regionais as medidas necessárias de acordo com o plano de erradicação em vigor.

12. Bibliografia

Bernardo F.M.A. (2013). *Inspeção Veterinária de ungulados abatidos para consumo. Critérios e decisões veterinárias aplicados a doenças bacterianas*. Textos de apoio. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.

Botelho, A., Duarte, E., Afonso, A., Albuquerque, T. & Amado, A. (2007). Transmissão da tuberculose bovina entre espécies domésticas e silvestres em Portugal: primeiras evidências moleculares em isolados de *Mycobacterium bovis* de uma exploração no Alentejo. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 102 (563-564), 299-303

Broughan, J., Brouwer A. & Upton, P. (2015). *Analysis of bovine tuberculosis surveillance at routine slaughter of cattle in Great Britain (2009-2013)*. Commissioned under project SB4500 by: Bovine TB Programme, DEFRA. Animal Health and Veterinary Laboratories Agency

Coetzer, J. A. W. & Tustin, R. C. (2004). *Infectious Diseases of Livestock* (2ª ed., vol. 3, pp. 1965-1969, 1973-1987). Oxford: Southern Africa.

Comissão Europeia. (2013). *Compreender as políticas da União Europeia: Segurança Alimentar*. Bruxelas. Acedido em Março, 19, 2015 disponível em <http://europedirect.aigmadeira.com/cms/wp-content/uploads/2013/04/Como-funciona-a-União-Europeia.pdf>

Corner, L. A. (2006). The role of wild animal populations in the epidemiology of tuberculosis in domestic animals: How to assess the risk. *Veterinary Microbiology*, 112, 303-312.

Daniel, T. M. (2006). The history of tuberculosis. *Elsevier*, 100, 1862–1870.

Decreto-lei 244/2002, de 5 de Novembro. *Nomenclatura das unidades territoriais para fins estatísticos*. D.R. n.º 255, Série I-A de 2002-11-05 - Ministério das Cidades, Ordenamento do Território e Ambiente

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2005). Manual de procedimentos para a realização da prova da Intradermotuberculização de comparação (IDC). Lisboa: DGAV

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2011b). *Caça Maior. Área epidemiológica de risco para a tuberculose de animais de Caça Maior. "Guia de Boas Práticas Higiênicas". Edital n.º 1-2011 da DGV.* Lisboa: DGV

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2011a). *Ofício – Circular nº16 de 1 de Fevereiro de 2011.* Lisboa: DGV

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2013). *Plano Acompanhamento da Inspeção Sanitária.* Lisboa: DGAV

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2014). *Doenças de declaração obrigatória.* Lisboa. Acedido em Março, 19, 2015 disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=19316&cboui=19316>

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2015a). *Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina: 2015.* Lisboa. Acedido em Março, 19, 2015 disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=8961117&generico=166927&cboui=166927>

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (2015b). *Relatórios técnicos de sanidade animal: Tuberculose Bovina, 2015.* Lisboa. Acedido em Março, 19, 2015 disponível em <http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?actualmenu=23822&generico=3180076&cboui=3180076>

Ferreira, A. J. & Ferreira, C. (1990). *Doenças Infecto-Contagiosas dos Animais Domésticos* (4ª ed., pp.60-97) Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Ferreira, J. C. (2011). *Relatório de estágio – Inspeção Sanitária.* Torres Vedras: Direção Geral de Veterinária.

Fonseca, A. P. (2011). *Problemática da tuberculose em ungulados domésticos e selvagens.* Moura, Portugal. Acedido em Jun. 9, 2015 disponível em <http://www.icnf.pt/portal/caca/resource/doc/tuberc/ung-dom-selv>

Garcia, B. M. (2006). *Higiene e inspección de carnes.* I Volume. (2ª ed., pp.2-35;340-356). Espanha: Ediciones Diaz de Santos.

Gil, J. I. (2000). *Manual de inspeção sanitária de carnes*. I Volume, (2ª ed., pp.17-67). Lisboa: Edição da Fundação Calouste Gulbenkian.

Gilbert, M., Mitchell, A., Bourn, D., Mawdsley, J., Clifton-Hadley, R. & Wint, W. (2005) Cattle movements and bovine tuberculosis in Great Britain. *Nature*. 435(7041), 491-496.

Hirsh, D. C. & Zee, Y. C. (2003). *Microbiologia Veterinária*. (2ª ed., pp.149-154). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Humblet, M. F., Boschioli, M. L. & Saegerman, C. (2009). Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. *Veterinary Research*, 40-50.

Instituto Nacional de Estatística (2014). *Balança Alimentar Portuguesa*. Lisboa. Acedido em Mar. 5, 2015 disponível em <http://www.ine.pt>

Instituto Nacional de Estatística (2014). *Estatísticas Agrícolas 2013*. Lisboa. Acedido em Mar. 6, 2015 disponível em <http://www.ine.pt>

Jesus, J., (2013). *Abates Sanitários de Tuberculose Bovina: Um Estudo Retrospectivo (2011-2012)*. Dissertação de mestrado. Lisboa: Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias - Faculdade de Medicina Veterinária.

Kazwala R. R., Kambarage, D. M., Daborn, C. J., Nyange, J., Jiwa, S. F. H. & Sharp, J. M. (2001). Risk factors associated with the occurrence of bovine tuberculosis in cattle in the Southern Highlands of Tanzania. *Vet. Res. Commun*, 25, 609–614.

Madeira S., Ribeiro R., Caetano P., Pina Fonseca A., Manteigas A., Caiola L., Boínas F. (2014). *Veados e javalis – que papel na epidemiologia da tuberculose na região centro*. Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal.

Mariano, G. e Cardo, M. (2007). Princípios Gerais da Legislação Alimentar. *Revista Segurança e Qualidade Alimentar*, 2, 46-47.

Menzies, F.D., Neil, S.D. (2000). *Cattle-to-Cattle transmission of Bovine Tuberculosis*. *Vet. J.*160, 92-106.

Ministério Agricultura e do Mar (2015). *Segurança alimentar, síntese de legislação*. Lisboa: MAM. Acedido em Mar. 18, 2015 disponível em http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/geral/files/seguranca_alimentar.pdf

Moiane I., Machado A., Santos N., Nhambir A., Inlamea O., Hattendorf J., Källenius G., Zinsstag, J. & Correia-Neves, M. (2014) *Prevalence of Bovine Tuberculosis and Risk Factor Assessment in Cattle in Rural Livestock Areas of Govuro District in the Southeast of Mozambique*. PLoS ONE 9(3): e91527. doi:10.1371/journal.pone.0091527

Organização Mundial do Comércio (OMC) (2014). *Acordo SPS*. Acedido em Out. 23, 2014 disponível em http://www.wto.org/english/docs_e/legal_e/15sps_01_e.htm

Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J., & Leonard, F.C. (2002). *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* (1ª ed., pp. 97-105). Oxford: Blackwell Science Ltd.

Ramos A., (2004). *Estudo de tumores em bovinos, ovinos, equinos e suínos*. Dissertação de Pós-graduação. Rio Grande do Sul: Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária.

Regulamento (CE) Nº. 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 2004, que estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano, Jornal Oficial da União Europeia, L 126: 83-127

Rua-Domenech, R., Goodchild, A.T., Vordermeier, H.M., Hewinson, R.G., Christiansen, K.H., Clifton-Hadley, R.S., (2006). Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: A review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *Res.Vet.Sci.*81, 190-210.

Schiller, I. , Oesch, B. , Vordermeier, H.M. , Palmer, M.V. , Harris, B.N. , Orloski, K.A. , Buddle, B.M. , Thacker, T.C. , Lyashchenko, K.P. , Waters, W.R. , 2010. Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication. *Transbound.Emerg.Dis.*57, 205-220.

Vieira-Pinto M. (2013). *Inspeção Sanitária de Suínos*. (1ª ed., pp.47-61) Lisboa: Manuel Joaquim (Ed.)

Walsh A. & Morgan D. (2014). *Bovine tuberculosis: Guidance on management of the public health consequences of tuberculosis in cattle and other animals (England)*. London: Public Health England. Acedido em Junho, 26, 2015 disponível em https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/359464/Bovine_TB_Guidance_090814_FINAL.pdf

World Organisation for Animal Health (OIE) (2015). *World animal health information database: Bovine Tuberculosis*. Disponível On-line. Acedido em Jun. 18, 2015 disponível em em

http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasedistributionmap?disease_type_hidden=&disease_id_hidden=&selected_disease_name_hidden=&disease_type=0&disease_id_terrestrial=32&species_t=0&disease_id_aquatic=-999&species_a=0&sta_method=semesterly&selected_start_year=2014&selected_report_period=1&selected_start_month=1&date_submit=OK

Anexos

ANEXO I

Doenças de declaração obrigatória nacional - Animais terrestres (Atualizado Fev. 2014)

DOENÇAS COMUNS A VÁRIAS ESPÉCIES	
Brucelose (<i>Brucella abortus</i>)	Paratuberculose
Brucelose (<i>Brucella melitensis</i>)	Pasteurelose
Brucelose (<i>Brucella suis</i>)	Peste bovina
Carbúnculo ou Antraz (<i>Bacillus anthracis</i>)	Raiva
Carbúnculo sintomático (<i>Clostridium chauvoei</i>)	Salmonelose
Doença de Aujeszky	Sarna
Doença hemorrágica epizootica	Tinha
Encefalite japonesa	Triquinelose
Encefalomielite equina de Leste	DOENÇAS DOS BOVINOS
Equinococose/hidatidose	Dermatose nodular contagiosa
Estomatite vesiculosa	Difteria
Febre aftosa	Encefalopatia espongiforme bovina
Febre catarral ovina (Língua Azul)	Leucose enzoótica bovina
Febre do Nilo Ocidental	Peripneumonia contagiosa bovina
Febre do Vale do Rift	Tuberculose bovina

Fonte: DGAV, 2014.

Lista de doenças de declaração obrigatória na EU – Animais terrestres (Atualizado Fev. 2014)

DOENÇAS COMUNS A VÁRIAS ESPÉCIES	DOENÇAS DOS BOVINOS
Brucelose (<i>Brucella abortus</i>) - Em Regiões Oficialmente Indemnes	Dermatose nodular contagiosa
Brucelose (<i>Brucella melitensis</i>) - Em Regiões Oficialmente Indemnes	Encefalopatia espongiforme bovina
Carbúnculo ou Antraz (<i>Bacillus anthracis</i>)	Leucose enzoótica bovina - Em Regiões Oficialmente Indemnes
Doença hemorrágica epizootica	Peripneumonia contagiosa bovina
Encefalite japonesa	Tuberculose bovina - Em Regiões Oficialmente Indemnes
Encefalomielite equina de Leste	
Estomatite vesiculosa	
Febre aftosa	

Febre catarral ovina (Língua Azul)
 Febre do Nilo Ocidental
 Febre do Vale do Rift
 Peste bovina
 Raiva

Fonte: DGAV, 2014

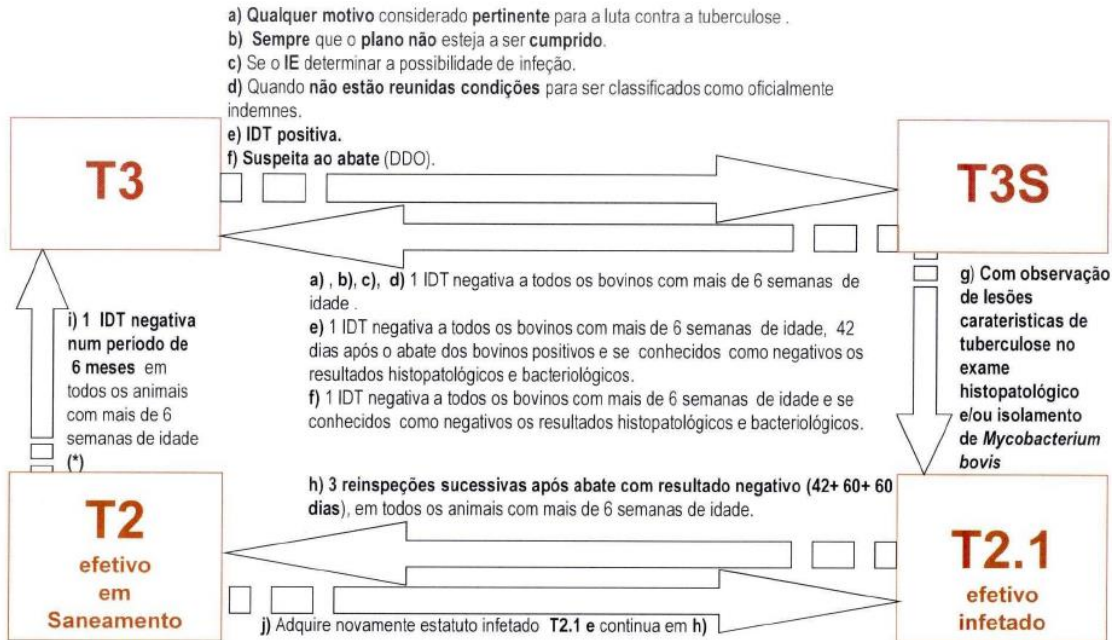
Doenças de declaração obrigatória à OIE – Animais terrestres (Atualizado Fev. 2014)

DOENÇAS COMUNS A VÁRIAS ESPÉCIES	DOENÇAS DOS BOVINOS
Brucelose (<i>Brucella abortus</i>)	Anaplasmosose bovina
Brucelose (<i>Brucella melitensis</i>)	Babesiose bovina
Brucelose (<i>Brucella suis</i>)	Campylobacteriose genital bovina
Carbúnculo ou Antraz (<i>Bacillus anthracis</i>)	Dermatose nodular contagiosa
Cowdriose	Diarreia viral bovina
Doença de Aujeszky	Encefalopatia espongiforme bovina
Doença hemorrágica epizoótica	Leucose enzoótica bovina
Encefalite japonesa	Peripneumonia contagiosa bovina
Encefalomielite equina de Leste	Rinotraqueite infecciosa bovina / vulvovaginite pustulosa
Equinococose/hidatidose	Infecciosa
Estomatite vesiculosa	Septicémia hemorrágica
Febre aftosa	Teileriose
Febre catarral ovina (Língua Azul)	Tricomonose
Febre do Nilo Ocidental	Tripanossomose (transmitida por tsé-tsé)
Febre do Vale do Rift	Tuberculose bovina
Febre Q	
Febre hemorrágica da Crimeia-Congo	
Miíase por <i>Chrysomya bezziana</i>	
Miíase por <i>Cochliomyia hominivorax</i>	
Paratuberculose	
Peste bovina	
Raiva	
Surra (<i>Trypanosoma evansi</i>)	
Triquinelose	
Tularémia	

Fonte: DGAV, 2014

ANEXO II

Tuberculose Bovina e fluxograma de estatutos sanitários de explorações (DGAV, 2015a).



(*) Se obtidos resultados positivos na IDT realizada em i) procede-se ao abate dos bovinos positivos **com** recolha de amostras e efetua-se nova IDT aos 42 dias; Após esta IDT:

- prossegue em i) se conhecidos como negativos os resultados histopatológicos e bacteriológicos .
- se observadas lesões caraterísticas de tuberculose no exame histopatológico e/ou isolamento de *Mycobacterium bovis* prossegue em j)

ANEXO III

Prevalência da tuberculose bovina em animais e explorações (DGAV, 2015a).

