

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Avaliação integrada da tuberculose em caça  
maior e bovinos**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**Ana Carolina Pilão dos Santos e Costa Abrantes**

Orientadora: Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Coorientador: Doutor Pelayo Acevedo



Vila Real, dezembro de 2017

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Avaliação integrada da tuberculose em caça  
maior e bovinos**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

**Ana Carolina Pilão dos Santos e Costa Abrantes**

Orientadora: Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Coorientador: Doutor Pelayo Acevedo

**Composição do Júri:**

Maria Manuela do Outeiro Correia de Matos

Alexandra Sofia Migueis Fidalgo Esteves

Ana Cláudia Correia Coelho

Maria Madalena Vieira-Pinto

Vila Real, dezembro de 2017



O conteúdo deste trabalho é da  
inteira responsabilidade do autor.



*À minha mãe, minha estrelinha guia.  
Ao meu pai, meu pilar na terra.*

*"Um berro de estarrecer os chaparros, saído das entranhas de uma raposa que alvejei  
mortalmente à traição."*

(Miguel Torga em Idanha-a-Nova, 1960)



## AGRADECIMENTOS

As palavras são poucas para agradecer a todos aqueles que estiveram sempre ao meu lado durante este percurso académico e de vida, porque sem eles nada disto teria sido possível. *Um grande obrigada desde já!*

Em primeiro, agradeço a esta *Mui Nobre Academia* - à minha querida Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, uma segunda casa onde fui tão feliz nestes 6 anos e conheci gente que levo para sempre junto ao meu coração. Obrigada por todo o carinho, entusiasmo e dedicação de todos os que integram o Mestrado Integrado em Medicina Veterinária me demonstraram e me ofereceram ao longo deste percurso.

À Professora Madalena Vieira-Pinto, orientadora deste trabalho à qual agradeço todo o apoio, dedicação, ajuda, firmeza e disponibilidade. Não é um obrigada apenas pela orientação científica, mas também pela amizade demonstrada em inúmeros momentos partilhados fora das portas universitárias.

Ao Doutor Pelayo Acevedo, pela incansável ajuda neste projeto, mesmo que de longe, onde de tudo fez para estar presente e contribuir para o sucesso deste trabalho. Em conjunto, não seria justo não agradecer a todos aqueles que no IREC me acolheram da melhor forma. Ao Jordi, ao Adri, à Laris, ao Joaquín, à Encarnación e à Cristina, um grande abraço com saudade.

Ao Doutor João Serejo, sempre com as portas abertas em Idanha-a-Nova para transmitir todo o seu conhecimento como médico veterinário e pela sua preocupação para com uma geração futura mais preparada e culta.

A todos os gestores pecuários, cinegéticos e intervenientes neste trabalho que me deram a possibilidade de concretizar este trabalho numa área tão bonita como Idanha-a-Nova e Vila Velha de Ródão. Ao Dr. Manteigas e Eng. Caiola da DGAV de Castelo Branco pela disponibilidade e ajuda. Um especial agradecimento ao Sr. Manuel Simões.

Ao Hospital Veterinário Muralha de Évora, a minha casa durante quase 7 meses, onde cresci e fui muito feliz. Um obrigado muito especial por todo o tempo que lá passei a todos os que fazem parte desta casa e que me deram um pouco de si ajudando-me a crescer como pessoa. Ao Dr. Nuno, ao Dr. José Miguel, ao Alexandre, ao Rui, ao Pedro, ao António e à Vanda, em especial, pelo exemplo que são para mim e por tantas saudades que me deixam todos os dias.

Aos meus companheiros de aventura por terras alentejanas, o Duarte, a Joana, a Filipa e em especial, à Teresa pela cumplicidade criada e pela partilha de tantas experiências que ainda hoje me provocam gargalhadas.

Ao Hospital Veterinário de Tapia, local tão pequenino nas Astúrias, que com tanto amor me acolheu. Obrigado a todos!

Aos amigos de sempre da terra que me viu nascer, Bárbara, Rita, Ana Luísa, Carolina e Fábio por todos estes 24 anos de alegrias.

À família que construí em Vila Real, os meus amigos do coração. São tantos, mas todos têm um cantinho muito especial em mim.

Às minhas pequenas crias, Eduarda, Colaça, Carolina, Vítor e Zé. Aos de sempre, Christophe, Meggie, Brita, Rui, Ana, Raquel, Bea, Rufino, Francisco e Tavares. Ao meu exemplo de perseverança, Helga. À minha companheira de aventuras dentro e fora de Portugal, Laura. À maior surpresa que caiu de paraquedas na UTAD, a minha Barbosa nervosa. Ao meu companheiro de luta, passeio e entreaajuda, o meu eterno João.

Aos meus meninos da Vivenda dos Bosses que me acolheram como parte deles, André, Raúl, Ricardo, Ventura, Pedro e Henrique, e claro, à minha mini-Mi; são eles que me fazem acreditar que uma amizade deve ser para sempre, aconteça o que acontecer, estejamos ou não na porta do lado ou noutro lado do Mundo.

À irmã que encontrei por terras transmontanas, a Sofia Portugal. Aquela que entrou de rompante na minha vida para levar parte de mim consigo para sempre. Aquela que me apoia em tudo, seja na alegria ou na tristeza, até na guerra. A verdadeira irmã do coração para a qual não tenho palavras para agradecer tudo o que partilhámos nestes anos. Poderíamos cortar o cordão umbilical? Poder podíamos, mas nunca mais seria a mesma coisa!

À minha família, o meu apoio de sempre. Um muito obrigado por acreditarem em mim, mesmo que por vezes não seja a pessoa mais fácil de lidar. Ao Venâncio José, fiel companheiro de quatro patas e bigodes ariscos, que tantas lambidelas e arranhadelas me deu para me consolar e alegrar.

Ao meu pilar na Terra, ao meu mais-que-tudo, ao meu grande amor, o meu Pai. Pai e mãe ao mesmo tempo, que nunca com nada me falhou. Obrigado por seres o meu verdadeiro exemplo; pelo apoio incondicional; pelo companheirismo nesta luta, que não sendo tua, a tornaste Nossa! Não há palavras, não há gestos, não há amor suficiente no Mundo para te agradecer por tudo!

À minha estrelinha no Céu, a minha mãe. *Infindável Saudade!*

## RESUMO

A Tuberculose animal (TB) é uma doença infecciosa crónica de carácter zoonótico causada por qualquer agente do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT).

A TB bovina, em diversos países incluindo Portugal, é alvo de um programa nacional de erradicação. Em determinadas regiões do país, como o sudeste da região centro, as dificuldades em obter sucesso neste programa prendem-se com a potencial transmissão pela fauna silvestre, especialmente veados e javalis, particularmente quando os recursos alimentares e de água escasseiam.

Neste sentido, entender quais os fatores de risco envolvidos na transmissão de TB na interface bovinos e caça maior é fundamental para a implementação de um plano de controlo efetivo nas explorações bovinas.

Neste estudo, um protocolo de análise de fatores de risco foi aplicado em oito explorações pecuárias (bovinos) extensivas. O protocolo incluiu três passos: inquérito ao produtor, mapeamento das fronteiras da exploração e caracterização em campo dos pontos de risco de transmissão de TB. Neste estudo, os fatores de risco registados enquadraram-se em 4 categorias: abeberamento, alimentação, armazenamento de alimento e outros; os quais foram classificados segundo uma escala de risco (1 - risco mínimo e 5 - risco máximo). Posteriormente foi elaborado um relatório com as medidas propostas a implementar de forma a mitigar a transmissão de TB na interface bovinos-caça maior.

Neste estudo foram identificados um total de 153 fatores de risco. Destes, 94 eram pontos de abeberamento (61,4%), 40 pontos de alimentação (26,2%), 12 de armazenamento de alimento (7,8%) e 7 outros fatores (4,6%). Dos pontos de abeberamento avaliados (charcas, ribeiros e bebedouros), 55 (58,5%) eram de risco 4 e 5; os pontos de alimentação (comedouros, alimento no solo, sementeiras e cevadouros para caça maior) de risco 4 e 5 perfizeram um total de 34 (85%); nas outras categorias nenhum fator foi classificado com risco elevado.

Os pontos de abeberamento e alimentação são potenciais pontos de agregação de bovinos e caça maior favorecendo a transmissão entre estas espécies. Neste estudo, estes pontos foram maioritariamente classificados com risco elevado uma vez que, para além de facilitarem esta agregação, também evidenciaram características que permitem a

sobrevivência de *M. bovis*. Os resultados encontrados demonstram que para se verificar um controlo efetivo da TB em nestas explorações pecuárias é necessário a aplicação de medidas de biossegurança específicas para estes pontos de forma a mitigar o risco de transmissão de TB entre bovinos e caça maior.

## ABSTRACT

Animal Tuberculosis (TB) is a chronic zoonotic disease caused by Mycobacteria species that belongs to the *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC).

TB disease eradication programs have been developed in some countries, which is the case of Portugal. In some regions of the country, like the southeast of central region, difficulties in further progressing of the programme may be related with potential transmission from wildlife, mainly red deer and wild boar, which happens particularly when food and water are scarce resources.

Understanding the risk factors associated with TB infection in interface livestock and large game is fundamental to develop effective strategies of control in cattle farms.

In this study, a TB risk assessment protocol was applied to 8 extensive cattle farms. This protocol included three steps: inquiry of farms' owners, exploration boundary mapping and characterizing in field of TB transmission risky points. In this study, the risk factors analysed fitted in 4 categories: watering, feeding, food storage and others factors; and was classified in a risk scale (1-minimum risk and 5-maximum risk). Subsequently, a report was prepared with the measures recommended to be implemented in order to mitigate the transmission of TB in the interface bovine - large game.

In this study 153 risk factors were identified. Of this, 94 were watering points (61,4%), 40 feeding points (26,2%), 12 food storage points (7,8%) and 7 of other factors (4,6%). Of watering points evaluated (water ponds, streams and drinkers), 55 (58,5%) was categorised as risk 4 and 5; the feeding points (feeders, food in soil, sowings and artificial feeders for large game) of risk 4 and 5 was 34 (85%); in others categories any factor was classified with high risk.

The watering and feeding points are potencial agregation points of bovine and large game which benefit the transmission between this species. In this study, these points were mostly classified with high risk, because they facilitate the agregation and show characteristics that permit survival of *M. bovis*. The results demonstrate that for a TB effective control in cattle's farms is necessary to apply specific biosecurity measures to these points in order to mitigate the TB transmission risk between bovine and large game.



# ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1 -
1.1. OBJETIVOS DO TRABALHO.....	2 -
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3 -
2.1.TUBERCULOSE.....	3 -
2.1.1. Género Mycobacterium.....	3 -
2.1.2. Etiologia da TB .....	4 -
2.1.3. TB humana .....	5 -
2.1.4. TB animal.....	7 -
2.1.4.1. Hospedeiros com relevância epidemiológica na Península Ibérica.....	8 -
2.1.4.2. Infecção e patogenia nos principais hospedeiros.....	11 -
2.2. TRANSMISSÃO DA TB ANIMAL NA INTERFACE: BOVINOS E CAÇA MAIOR.....	14 -
2.2.1. Fatores de risco para a transmissão intra e inter-espécies.....	17 -
2.3. CONTROLO DA TB ANIMAL EM BOVINOS E CAÇA MAIOR.....	19 -
2.3.1. Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina.....	21 -
2.3.2. Aplicação do Edital N°1 - Tuberculose em caça maior.....	23 -
2.3.3. Controlo populacional na fauna silvestre .....	25 -
2.3.3.1. Redução do aporte alimentar.....	26 -
2.3.3.2. Eliminação não seletiva.....	26 -
2.3.3.3. Eliminação seletiva.....	27 -
2.3.4. Imunização de reservatórios.....	27 -

2.3.5. Medidas preventivas e de biossegurança .....	- 28 -
2.3.5.1. Controlo de movimentações.....	- 28 -
2.3.5.2. Melhoria das medidas de biossegurança em explorações pecuárias. -	29 -
2.3.5.3. Aplicação de boas práticas de gestão cinegética.....	- 32 -
2.3.5.4. Gestão dos resíduos de caça.....	- 33 -
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	- 35 -
3.1. DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO .....	- 35 -
3.2. RECOLHA DE DADOS .....	- 38 -
3.3. DESCRIÇÃO DO PROTOCOLO APLICADO NAS EXPLORAÇÕES EM ESTUDO.....	- 39 -
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	- 43 -
4.1. ATIVIDADE PECUÁRIA/CINEGÉTICA .....	- 44 -
4.1.1. Coabitação com outras espécies domésticas .....	- 46 -
4.1.2. Coabitação com a fauna silvestre .....	- 47 -
4.1.3. Maneio alimentar.....	- 49 -
4.2. AVALIAÇÃO SANITÁRIA .....	- 50 -
4.3. CARATERIZAÇÃO DOS LIMITES E PARCELAMENTO DAS EXPLORAÇÕES EM ESTUDO .....	- 54 -
4.4. IDENTIFICAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE FATORES DE RISCO.....	- 56 -
4.4.1. Pontos de abeberamento.....	- 61 -
4.4.2. Pontos de alimentação .....	- 66 -
4.4.3. Armazenamento de alimento.....	- 71 -

4.4.4. Outros fatores de risco.....	- 72 -
4.5. MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA .....	- 74 -
4.5.1. Medidas de biossegurança generalistas.....	- 74 -
4.5.1. Medidas de biossegurança específicas .....	- 78 -
4.5.1.1. Medidas relacionadas com a disponibilidade de água.....	- 82 -
4.5.1.2. Medidas relacionadas com a disponibilidade de alimento.....	- 83 -
4.5.1.3. Medidas relacionadas com o manejo da exploração.....	- 84 -
4.5.1.4. Medidas relacionadas com o manejo cinegético.....	- 86 -
5. CONCLUSÃO.....	- 87 -
6. BIBLIOGRAFIA .....	- 91 -
7. ANEXOS .....	- 103 -



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Evolução filogenética do Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (adaptada de RodriguezCampos et al., 2014).....	4
<b>Figura 2.</b> Sistema multi-hospedeiro na área mediterrânica da Península Ibérica. As setas são indicadoras da transmissão de <i>M. bovis</i> entre os diferentes hospedeiros (esquema do autor).....	9
<b>Figura 3.</b> Imagens de uma armadilha fotográfica colocada num ponto de alimentação para espécies cinegéticas. À esquerda, foto diurna de um bovino a alimentar-se e à direita, foto noturna de uma vara de javalis no mesmo local (fotografias gentilmente cedidas pelo Sr. Manuel Simões).....	16
<b>Figura 4.</b> Fotografias de uma armadilha fotográfica, colocada num local de suplementação alimentar para espécies cinegéticas, onde se observa a presença de um texugo (esquerda), uma raposa (centro) e dois javalis (direita). (fotografias gentilmente cedida pelo Sr. Manuel Simões).....	17
<b>Figura 5.</b> Diagrama resumo sobre as decisões e opções de intervenção a nível sanitário na fauna silvestre (adaptado de Górtazar et al., 2015a).....	20
<b>Figura 6.</b> Esquema dinâmico de transferência dos estatutos sanitários das explorações submetidas aos Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose bovina (adaptado de DGAV, 2016).....	22
<b>Figura 7.</b> Mapa a assinalar a área epidemiológica de risco para a tuberculose dos animais de caça maior (adaptado de: Edital N°1 - DGV, 2011).....	23
<b>Figura 8.</b> Fluxograma de informação e partilha de resultados entre as entidades designadas pelo Edital N°1. DGV - Direção Geral de Veterinária; MV - médico veterinário (adaptado de Lamela, 2011).....	24
<b>Figura 9.</b> Uso de barreiras de acesso a pontos de agregação. A- barreira impermeável para ungulados silvestres; B - barreira permeável a ungulados, mas impermeável a bovinos (figuras adaptadas de Barasona et al., 2013).....	31
<b>Figura 10.</b> Representação da área de estudo. Distrito de Castelo (a vermelho) representado no contexto de Portugal Continental e com uma ampliação onde se identifica o concelho de Idanha-a-Nova e de Vila Velha de Ródão.....	35
<b>Figura 11.</b> Pré-mapeamento da exploração antes da visita (fotografia de autor).....	39
<b>Figura 12.</b> Inquérito ao proprietário da exploração (fotografia de autor).....	40
<b>Figura 13.</b> Marca de pata de cervídeo (fotografia de autor).....	40
<b>Figura 14.</b> Cevadouro para alimentação suplementar de ungulados silvestres (fotografia de autor).....	40

<b>Figura 15.</b> Delimitação das parcelas da exploração com auxílio do proprietário (à esquerda) nos mapas previamente gerados (à direita) (fotografias de autor).....	41
<b>Figura 16.</b> Descrição, fotografia e georreferenciação pelo programa CyberTracker® (fotografias de autor).....	41
<b>Figura 15.</b> Número de cabeças de bovinos por hectare nas áreas identificadas de A a H.....	45
<b>Figura 16.</b> Tipo de cercado utilizado para o parcelamento das explorações: à esquerda, cercado tipo cinegético (altura superior a 2,2m) e à direita, cercado tipo pecuário (1,5m de altura). (fotografias de autor).....	55
<b>Figura 17.</b> Exemplos (A - D) de pontos de abeberamento encontrados nas explorações e classificados segundo o seu risco de transmissão de TB (fotografias do autor).....	65
<b>Figura 18.</b> Comedouro seletivo para bezerros (fotografia do autor).....	67
<b>Figura 19.</b> Exemplos (A - D) de pontos de alimentação encontrados nas explorações e classificados segundo o seu risco de transmissão de TB (fotografias do autor).....	70
<b>Figura 20.</b> Local de armazenamento de alimento para bovinos classificado com nível 2 de risco (fotografia do autor).....	72
<b>Figura 21.</b> Exemplos de áreas pantanosas. A - pântano de grandes dimensões e grande humidade; B - "banho de javali" que constitui uma área com grandes marcas do uso de javalis e em transição húmido-seco (fotografias do autor).....	73
<b>Figura 22.</b> Porta operada por bovinos (adaptado de Barasona <i>et al.</i> , 2013).....	84

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais fatores de risco identificados em explorações pecuárias relativas à TB em climas mediterrâneos, segundo a literatura científica (adaptado de PATUBES, 2017).....	30
<b>Tabela 2.</b> Identificação e dimensões (em ha) das diferentes áreas em estudo.....	45
<b>Tabela 3.</b> Densidade de ungulados cinegéticos (indivíduos/ha) da área I (5200 ha).....	46
<b>Tabela 4.</b> Outras espécies domésticas existentes (assinaladas a azul) nas áreas A a H.	47
<b>Tabela 5.</b> Identificação da presença de fauna silvestre nas áreas A a H, por informação do inquérito ao produtor pecuário.....	47
<b>Tabela 6.</b> Quantificação da presença de espécies cinegéticas nas áreas I e J.....	49
<b>Tabela 7.</b> Atual classificação sanitária das explorações de bovinos e prevalência de LCT em reses de caça maior e respetiva percentagem (%) de rejeição nas zonas de caça associadas geograficamente às áreas pecuárias nas últimas cinco épocas venatórias....	51
<b>Tabela 8.</b> Resumo do parcelamento e forma de isolamento das áreas A a J.....	54
<b>Tabela 9.</b> Total de fatores de risco avaliados nas áreas A a H e respetiva classificação (continua).....	57
<b>Tabela 10.</b> Resumo dos fatores de risco avaliados nas áreas cinegéticas (I e J) (continua).....	59
<b>Tabela 11.</b> Pontos de abeberamento das áreas A a H, e respetivo nível de risco.....	61
<b>Tabela 12.</b> Resultados relativos ao nº de cabeças de bovinos por hectare das áreas estudadas e respetivo nº de pontos de água.....	63
<b>Tabela 13.</b> Pontos de abeberamento das áreas I e J e respetivo nível de risco.....	64
<b>Tabela 14.</b> Pontos de alimentação das áreas A a J e respetivo nível de risco.....	66
<b>Tabela 15.</b> Classificação de risco dos pontos de armazenamento de alimento nas áreas de A a H.....	71
<b>Tabela 16.</b> Lista de medidas de biossegurança generalistas propostas e respetivas áreas de A a H (assinaladas a azul).....	75
<b>Tabela 17.</b> Categorias e respetiva percentagem (%) das medidas de biossegurança específicas propostas.....	79

**Tabela 18.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com a disponibilidade de água nas explorações e o nº de explorações onde estas foram propostas..... 80

**Tabela 19.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com a disponibilidade de alimento nas explorações e o nº de explorações onde estas foram propostas..... 81

**Tabela 20.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com o manejo da exploração e o nº de explorações onde estas foram propostas..... 83

**Tabela 21.** Medidas de biossegurança específicas propostas para as áreas cinegéticas (I e J), respetiva percentagem (%) e nº de áreas onde foi proposta..... 85

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS, ACRÓNIMOS E SÍMBOLOS

BCG – Bacilo Calmette-Guérin

BIS - Beira Interior Sul

bTB - Tuberculose bovina

C.E. - Comissão Europeia

DGAV- Direção Geral de Alimentação e Veterinária

DGV - Direção Geral de Veterinária

ELISA- Enzyme-Liked Immunosorbent Assay

ha - Hectares

ICNF - Instituto da conservação da Natureza e das Florestas

IDTC- Intradermotuberculinização comparada

IFN-  $\gamma$  -Interferão gama

IN- Idanha-a-Nova

INIAV- Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária

LCT-Lesão compatível com Tuberculose

MCT- Complexo *Mycobacterium tuberculosis*

OIE - Organização Mundial de Saúde Animal

SIRCA - Sistema de Recolha de Cadáveres de Animais Mortos na Exploração

TB - Tuberculose

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

VVR - Vila Velha de Ródão

ZCA, ZCM ou ZCT - Zona(s) de Caça Associativas, Municipais ou Turísticas

# 1. INTRODUÇÃO

Por todo o Mundo são conhecidas diversas doenças infecciosas e parasitárias com marcada influência na sanidade animal. Estas são, muitas vezes, partilhadas na interface entre espécies domésticas e silvestres, como a título de exemplo, a Tuberculose (TB), a Raiva, a Peste Suína Clássica, a Brucelose, a Língua Azul, a Triquinelose e a Salmonelose (Gortázar *et al.*, 2007).

Atualmente, a exploração pecuária em regime extensivo dificilmente pode competir em termos económicos com a de regime intensivo, contudo a manutenção de um número mínimo (em densidades adequadas) de bovinos neste regime e a coabitação com diferentes espécies domésticas ou silvestres é imprescindível para a conservação da biodiversidade da flora e fauna no mundo rural e natural. Desta feita, qualquer condicionante que afete a rentabilidade dos sistemas extensivos, como as doenças que circulam na interface entre espécies domésticas e silvestres tal como a TB, põe em causa o futuro das explorações pecuárias e a sua sustentabilidade (Martínez-Guijosa *et al.*, 2016).

A TB animal, doença em foco neste trabalho, é uma doença crónica de carácter zoonótico causada por qualquer agente do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), que na Península Ibérica infeta, especialmente, bovinos e espécies de caça maior, como por exemplo, o javali e o veado (Vicente *et al.*, 2006).

Em Portugal, segundo os inquéritos epidemiológicos resultantes do programa de erradicação da TB bovina (Santos, 2017), sabe-se que 21% dos surtos de TB em bovinos têm origem na fauna silvestre. Perante estes dados, pareceu-nos que faria todo o sentido concentrarmos a nossa atenção nesta doença, contribuindo para o estudo de uma opção viável de controlo da TB, como é a aplicação de planos de biossegurança em explorações pecuárias de regime extensivo. Pretendemos, por conseguinte, com este trabalho, promover novas formas preventivas e de controlo, de modo a auxiliarmos a diminuição da prevalência de TB animal na interface bovinos e caça maior, em Portugal.

Assim, neste trabalho, metodologicamente, procedeu-se à aplicação de um protocolo de mitigação de risco, procedendo a uma análise pormenorizada e individual de várias explorações tendo em conta o historial da exploração em relação à TB (através de um inquérito padrão), mapeamento e georreferenciação dos fatores de risco e sua

classificação segundo uma escala de risco-padrão. É igualmente, abordada a aplicação de medidas de controlo preventivas, particularmente pela elaboração de propostas de medidas de biossegurança específicas para cada exploração estudada e baseado na análise do risco dos diversos fatores encontrados em campo.

### **1.1. OBJETIVOS DO TRABALHO**

1. Compreender o funcionamento do setor pecuário e cinegético em Portugal e as funções do Médico Veterinário na promoção da sanidade animal (consultar Anexo I);
2. Contextualizar epidemiologicamente a Tuberculose em bovinos na zona de risco de TB em caça maior em Portugal;
3. Estudar e caracterizar a interface sanitária entre ungulados domésticos e silvestres na Região sudeste de Portugal;
4. Melhorar o conhecimento de fatores de risco para a TB em área de interface doméstico-silvestre;
5. Identificar possíveis medidas de biossegurança corretivas e preventivas contra a TB.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. TUBERCULOSE

#### 2.1.1. Género *Mycobacterium*

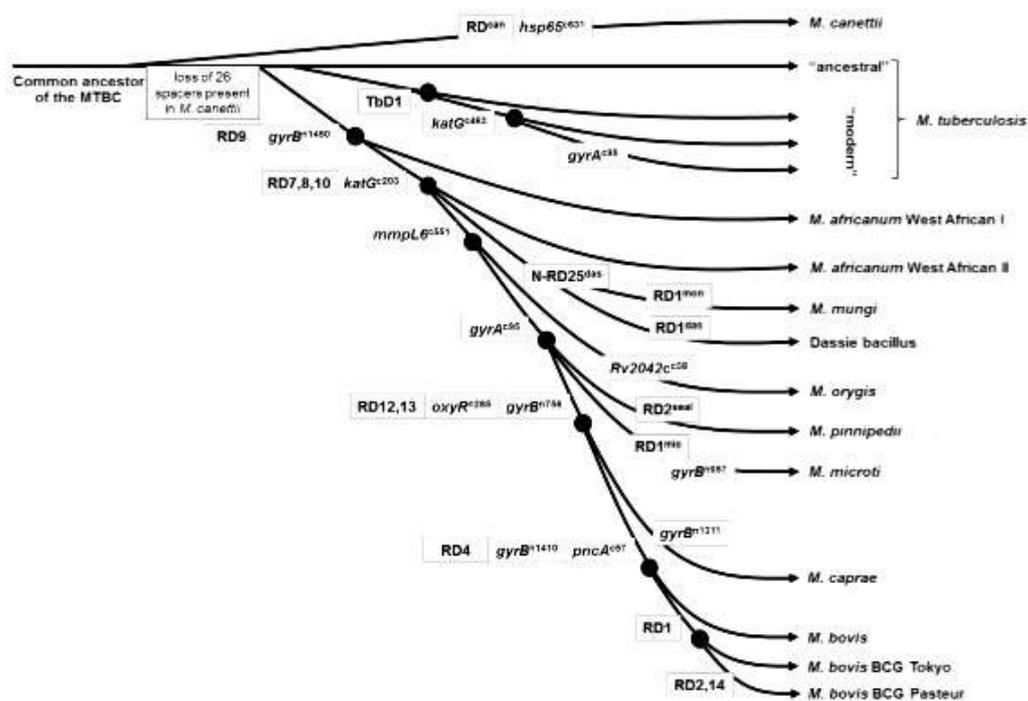
O agente etiológico da Tuberculose (TB) é uma micobactéria pertencente ao género *Mycobacterium*, família Mycobacteriaceae, sub-ordem Corynebacteriaceae e ordem Actinomycetales (Campos, 2006).

As micobactérias são classificadas como pertencentes ao género *Mycobacterium* com base nos seguintes aspetos: na acidorresistência, na presença de ácidos micólitos (com 70 a 90 carbonos) na sua parede e no grande conteúdo (61 a 71 mol%) de guanina mais citosina (G+C) no seu DNA (Murray *et al.*, 2009). Na realidade, este género consiste em bacilos Gram positivos aeróbios, imóveis e não formadores de esporos, que medem entre 0,2 e 10 µm. A sua parede celular é rica em lípidos, formando uma superfície hidrofóbica resistente à maioria das colorações, desinfetantes, antibacterianos comuns e à dessecação. São apelidados de bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR) (Holt *et al.*, 1993; Murray *et al.*, 2009). Além disso, quando coradas com a coloração Ziehl-Neelsen, as micobactérias coram de magenta, na medida que retém o corante após lavagem com soluções de álcool e ácido. Dificilmente coram com coloração de Gram, contudo são consideradas Gram positivas devido à sua estrutura e parede celular (Campos, 2006).

Como é sabido, a maioria das espécies constituintes do género *Mycobacterium* são saprófitas, sendo que um grande número destas são patogénicas. As patogénicas são caracterizadas por um crescimento em cultura lento, ao passo que as não-patogénicas crescem consideravelmente rápido (Murray *et al.*, 2009). Importa ainda mencionar que o género *Mycobacterium* é muito diversificado e existem micobactérias comumente referidas como tuberculosas e outras como atípicas ou não-tuberculosas. No grupo das micobactérias tuberculosas inclui-se um conjunto de espécies relacionadas, o Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MCT), e nas não-tuberculosas, o Complexo *Mycobacterium avium* e outras espécies, tais como: *Mycobacterium leprae* ou *Mycobacterium ulcerans* (Holt *et al.*, 1993; Murray *et al.*, 2009).

### 2.1.2. Etiologia da TB

O grupo de micobactérias responsável pela Tuberculose insere-se num conjunto designado de Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (MCT) (Murray *et al.*, 2009). Com efeito, o MCT é constituído por 10 espécies que partilham genes idênticos, tendo sido possível elaborar uma estratificação filogenética (Figura 1) com base em características genotípicas e fenotípicas encontradas nas diversas espécies e no seu ancestral comum (Rodriguez-Campos *et al.*, 2014). Estas espécies estão intimamente relacionadas, partilhando 99% de homologia no seu genoma e, como tal, são de difícil distinção, o que é possível apenas através das suas propriedades bioquímicas (Cole, 2002; Boniotti *et al.*, 2014).



**Figura 1.** Evolução filogenética do Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (adaptada de Rodriguez-Campos *et al.*, 2014).

A diversidade de agentes que constitui o MCT acomete uma grande variedade de hospedeiros naturais (Thoen *et al.*, 2009; Rodriguez-Campos *et al.*, 2014) e tem registado, ao longo dos tempos, uma grande adaptação a novos hospedeiros e diferentes ambientes ecológicos (Allen *et al.*, 2010). Note-se que agentes como o *Mycobacterium canettii* (Canettii, 1969), *Mycobacterium tuberculosis* (Koch, 1882) e *Mycobacterium*

*africanum* I e II (Castets *et al.*, 1968; Castets & Sarrat, 1969) são patogénicos e afetam essencialmente o Homem, não obstante, já foram também isolados em espécies animais domésticas e selvagens (Mendoza, 2004; Rodriguez-Campos *et al.*, 2014).

O *Dassie bacillus* (Wagner *et al.*, 1958), o *Mycobacterium mungi* (Alexander *et al.*, 2010), o *Mycobacterium orygis* (Lomme *et al.*, 1976), o *Mycobacterium pinnipedi* (Cousins *et al.*, 2003), o *Mycobacterium microti* (Reed, 1957), o *Mycobacterium caprae* (Aranaz *et al.*, 2003) e o *Mycobacterium bovis* (Karlson & Lessel, 1970) são micobactérias cujos hospedeiros naturais são animais. Deste modo, o *Dassie bacillus* e o *M. mungi* estão interligados e afetam, essencialmente, mangustos, suricatas e coelhos; o *M. orygis* afeta uma grande variedade de ruminantes; o *M. pinnipedi*, comumente conhecido como "bacilo do mar", afeta mamíferos marinhos; o *M. microti* tem como principal hospedeiro os pequenos roedores, todavia recentemente foi isolado em lamas, bovinos, gatos, cães e porcos; o *M. caprae* e o *M. bovis* afetam ruminantes, sobretudo caprinos e bovinos respetivamente, no entanto na atualidade, estão presentes em outras espécies como, a título de exemplo, javalis, veados, ovinos, dromedários e búfalos (Mendoza, 2004; Michel *et al.*, 2006; Thoen *et al.*, 2009; Meikle *et al.*, 2011). No entanto, está identificado o poder zoonótico de algumas destas espécies, como é o caso do *M. bovis*, *M. microti* e *M. orygis*, tendo sido já isoladas em humanos com sinais clínicos de TB (Di Marco *et al.*, 2012; Boniotti *et al.*, 2014; Rodriguez-Campos *et al.*, 2014).

De facto, o *M. bovis* Calmette-Guérin (BCG) consiste numa estirpe vacinal atenuada laboratorialmente por Calmette e Guérin (1906), apresentando como precursor o *M. bovis*. Atualmente, é a única estirpe autorizada na produção de vacinas profiláticas para a TB humana (O'Reilly & Daborn, 1995; Rodriguez-Campos *et al.*, 2014; WHO, 2017).

### **2.1.3. TB humana**

O *M. tuberculosis*, ou bacilo de Koch como é também apelidado, é o principal agente patogénico da TB humana. Este foi descoberto por Koch, em 1881, inicialmente através da coloração de fucsina-anilina e, em 1884, isolando-o, pela primeira vez, em meio de cultura (Roxo, 1997; Davies, 2006; OIE, 2017).

Hoje em dia, a TB humana é apresentada pela Organização Mundial de Saúde (2017) como uma das 10 principais causas de morte em todo o mundo. É percecionada

como um grave problema social e de saúde, chegando a afetar milhões de pessoas anualmente por todo o mundo, sendo que a forma latente da TB pode chegar a atingir um terço da população mundial (Teixeira, *et al.*, 2007; Richomme *et al.*, 2010). Dados mundiais de 2015 indicam que 10,4 milhões de pessoas contraíram esta doença e que dos afetados, aproximadamente 1,8 milhões morreram. Esclareça-se que 87% dos novos casos declarados em 2015 em todo o mundo pertencem aos 30 países com índices mais altos de prevalência de TB humana, tais como Índia, Indonésia, China, Nigéria, Paquistão e África do Sul (WHO, 2017).

No entanto, a incidência de TB tem diminuído 1,5% por ano desde 2000, segundo dados reportados pelo Relatório Global da Tuberculose, disponibilizado anualmente pela Organização Mundial de Saúde. Projetos como o "End TB Strategy", da responsabilidade desta mesma organização, têm em vista uma diminuição da incidência de novos casos de TB em cerca de 80% no período 2015-2030 (*idem, ibidem*). Concretamente em Portugal, os dados de 2016 indicam que a taxa de incidência situou-se em 18 novos casos por 100 mil habitantes. À semelhança dos programas que existem a nível mundial, também em Portugal, existem diversos programas de combate à TB (DGS, 2017).

*Mycobacterium tuberculosis* é o agente que mais comumente causa a TB humana, mas *M. bovis*, um dos agentes etiológicos da TB animal, pode, em diversas ocasiões, ser responsável por esta doença, como referido anteriormente (Sales *et al.*, 2001). Vários casos de surtos de infeção por *M. bovis* foram descritos em humanos, mas apenas um pequeno número envolve transmissão humano-humano (Soolingen *et al.*, 1994). A TB zoonótica está amplamente distribuída nos países em desenvolvimento, onde as atividades de controlo e vigilância da TB são residuais e há um grande número de fatores de risco, tais como: a falta de práticas de higiene alimentar e uma grande prevalência de casos de doenças causadoras de imunodeficiência, como o caso do HIV (vírus da imunodeficiência humana) (Cosivi *et al.*, 1998; Rodriguez *et al.*, 2010). Estima-se que cerca de 10% da TB humana resulte da exposição às espécies pecuárias e produtos derivados destas (Palmer, 2013). A principal via de transmissão animal-homem, no século passado, assentava essencialmente no consumo de leite não pasteurizado contaminado, levando a que as faixas etárias mais afetadas fossem as das crianças e jovens. A pasteurização contribuiu para um retrocesso neste processo, contudo ainda existem diversos países, principalmente os em desenvolvimento, que

mantêm a prática de consumo de leite cru ou derivados deste, sendo, por conseguinte, estes os mais afetados na atualidade (O'Reilly & Daborn, 1995).

Além da população que se contamina com o bacilo da TB por via do consumo de leite, existe inclusive o perigo da saúde ocupacional dos agricultores, produtores pecuários, caçadores e trabalhadores de matadouros que têm contacto direto com animais infetados, tais como bovinos, javalis ou veados (*idem, ibidem*). Há, por vezes, um descuido da parte dos trabalhadores do sector agropecuário e cinegético, pois, para além do contacto direto com os animais infetados, pessoas que lidam com estes animais, podem indiretamente ser contaminados por aerossóis quando as carcaças são abertas ou por entrada direta dos organismos por via cutânea (Aranaz *et al.*, 2004).

#### **2.1.4. TB animal**

A Tuberculose animal é uma doença crónica e progressiva que afeta uma ampla variedade de espécies domésticas e silvestres, sendo causada por *M. bovis* e outros membros do MCT, como *M. caprae*. Estima-se que mais de 50 milhões de bovinos possam estar infetados, o que conduz a grandes perdas económicas e avultados custos associados ao controlo e restrições de movimento de animais (Ferré, 2010; Rodriguez-Campos *et al.*, 2014). Apesar de o *M. bovis* apresentar um largo espectro de hospedeiros, os bovinos são considerados hospedeiros por excelência deste agente, designando-se por TB bovina (bTB) quando um bovino é infetado por *M. bovis* ou *M. tuberculosis* e estes agentes são isolados laboratorialmente, segundo o Decreto-Lei 31/2005.

O *M. bovis*, até ao presente, foi isolado numa diversidade de espécies animais, como, a título de exemplo, o búfalo, o bisonte, a ovelha, a cabra, o equino, o porco, o javali, o veado, o antílope, o texugo, o cão, o gato, o elefante, o lama, o esquilo, o leão, o leopardo e o lince (Serraino *et al.*, 1999; Sales *et al.*, 2001; Meikle *et al.*, 2011; Di Marco *et al.*, 2012; OIE, 2017).

A TB animal é considerada uma doença emergente na fauna silvestre em várias partes do mundo, sendo os reservatórios silvestres um dos potenciais focos de infeção para espécies domésticas assim como para o homem (Di Marco *et al.*, 2012), dificultando, assim, a erradicação da TB bovina no mundo (Santos *et al.*, 2009).

As micobactérias responsáveis pela TB animal são extremamente resistentes no meio ambiente, sendo as condições ideais de sobrevivência, fatores como temperaturas baixas, áreas húmidas e escuras (Humblet *et al.*, 2009). Logo, estas são bactérias que se encontram amplamente distribuídas no solo e na água (Cole, 2002).

#### **2.1.4.1. Hospedeiros com relevância epidemiológica na Península Ibérica**

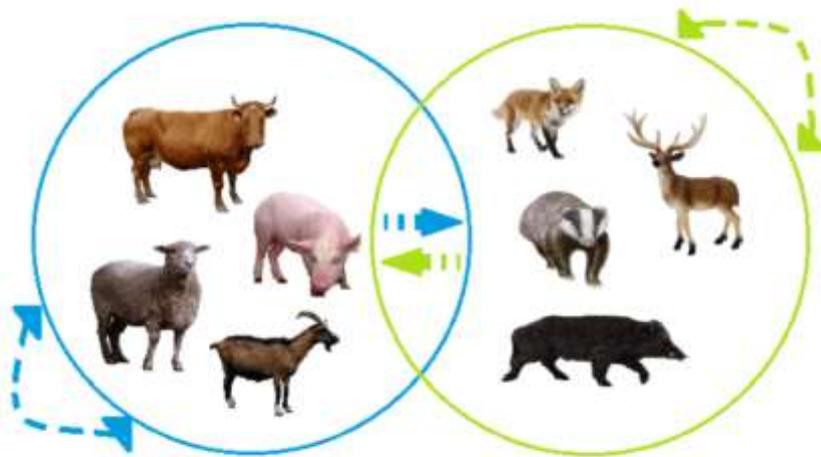
Segundo Nugent (2011), numa comunidade de multi-hospedeiros podem existir dois tipos de hospedeiros: os reservatórios e os hospedeiros acidentais. Os reservatórios são aqueles que são capazes de manter a infeção de forma independente de outras espécies; já os hospedeiros acidentais, pelo contrário, são os que não apresentam essa capacidade e a infeção apenas persiste se ocorrer reinfeção por outra espécie (Ferré, 2010). Uma mesma espécie pode atuar como reservatório em determinadas circunstâncias e como hospedeiro acidental noutras, uma vez que este último não depende só da espécie em questão, mas também de questões ambientais, densidade populacional, habitat ou da interação com outras espécies (Nugent *et al.*, 2015).

Na Península Ibérica, existem diversas regiões com distintas prevalências de TB animal, coincidindo com áreas de maior ou menor densidade de fauna silvestre e com forte presença de atividade pecuária com hospedeiros domésticos potencialmente infetados (Santos *et al.*, 2009). As regiões insulares, tanto portuguesas como espanholas, são praticamente livres de TB (Acevedo *et al.*, 2013). Em regiões de clima atlântico, como o litoral português e a Galiza em Espanha, a prevalência de bTB é baixa, devido ao seu clima inapropriado e ao tipo de produção pecuária, que predominantemente é semi-intensiva ou intensiva e com rebanhos de pequeno tamanho (Muñoz *et al.*, 2015).

As regiões com clima mediterrânico são as que apresentam uma maior prevalência de TB tanto a nível dos bovinos, como da fauna silvestre. O ecossistema propício, o facto da região ter um grande número de explorações pecuárias de regime extensivo com foco em bovinos, caprinos e ovinos e a existência de diversos hospedeiros silvestres, promovem a persistência de elevada prevalência de TB nesta área (Rodriguez-Prieto *et al.*, 2012; Vicente *et al.*, 2013).

Particularmente em Portugal, a área com maior prevalência de TB na fauna silvestre é na região centro-este do país, mais especificamente no concelho de Idanha-a-

Nova (área fronteiriça com a região da Extremadura espanhola) em que se encontram prevalências de 7-10% em veados e 16-35% em javalis (Vieira-Pinto *et al.*, 2011; Cunha *et al.*, 2012) e conseqüentemente, esta é a área com maior número de focos de bTB em explorações de bovinos (DGAV, 2016). De facto, nesta área existe um sistema multi-hospedeiros muito bem organizado, como se observa na Figura 2, com participação de espécies domésticas (bovino e caprino e, ocasionalmente, ovino e suíno) e silvestres (javali, veado e gamo e, localmente, o texugo) (Vicente *et al.*, 2013).



**Figura 2.** Sistema multi-hospedeiro na área mediterrânica da Península Ibérica. As setas são indicadoras da transmissão de *M. bovis* entre os diferentes hospedeiros (esquema do autor).

O bovino é o principal reservatório de *M. bovis*, visto que é perfeitamente capaz de manter a infeção na sua população sem intervenção de outras espécies (Palmer, 2013). Na Península Ibérica, os bovinos mais afetados são aqueles que são criados em extensivo, sendo a região da Extremadura, em Espanha, a mais afetada assim como o interior centro de Portugal que faz fronteira com essa região (Fonseca, 2011; Rodriguez-Prieto *et al.*, 2012).

O papel da cabra, da ovelha e do porco doméstico na epidemiologia da doença ainda não está totalmente esclarecido. Estudos publicados como o de Di Marco *et al.* (2012), que aborda o papel da cabra na transmissão de micobactérias (inclusivé *M. caprae*) a bovinos, o de Napp *et al.* (2013), que aborda a infeção do porco doméstico e o de Muñoz-Mendoza *et al.* (2015) que versa em torno da ovelha, têm vindo a robustecer a literatura existente sobre esta matéria. A TB na cabra, ovelha e porco doméstico deve

ser considerada importante em situações concretas, principalmente, quando em contato com bovinos.

Quanto ao javali (*Sus scrofa*), este está presente em praticamente toda a Península Ibérica, preferindo as florestas como habitat. Trata-se de um animal silvestre, noturno, com grande facilidade de adaptar-se ao ambiente que o rodeia, sendo que o seu alimento privilegiado é sobretudo de origem vegetal. Não obstante, como omnívoro que é, alimenta-se também de carcaças de outros animais quando lhe é permitido e sente necessidade de tal (Trcka *et al.*, 2006; Mendoza, 2004). Além disso importa mencionar que estamos perante um animal muito resistente, capaz de cruzar grandes barreiras, tais como: autoestradas, rios e cercados. É inclusivamente sabido, que os javalis têm capacidade de deslocar-se ao longo de distâncias superiores a 100 km em linha reta. A sua área de caça e procura de alimento corresponde a uma extensão de 50 km de raio em relação ao seu local de encame (Mendoza, 2004).

Note-se que os javalis são um excelente indicador da presença da bactérias do MCT em determinada região, visto que, são extremamente suscetíveis à infeção (Nugent *et al.*, 2015). Este está amplamente distribuído na Península Ibérica, sendo o ungulado silvestre mais abundante; e é então, considerado um verdadeiro reservatório de *M. bovis* nesta área (Mendoza, 2004; Palmer, 2013; Boniotti *et al.*, 2014). Além deste facto, Risco e colaboradores (2014) estudaram a relação entre a infeção por *M. bovis* nos javalis e a existência de coinfeções por outras bactérias, parasitas ou vírus com importância na sanidade desta espécie. Está descrita uma correlação positiva entre o contacto dos javalis com o Circovírus porcino tipo 2 (PCV2), com o vírus da Doença de Aujeszky (ADV) e com a infeção por *Metastrongylus* spp em relação à gravidade do padrão de TB encontrada nos javalis.

Os cervídeos, no caso da Península Ibérica, o veado vermelho (*Cervus elaphus*) e o gamo (*Dama dama*) são espécies de elevado interesse no estudo da TB animal, apesar de o veado ter uma expansão territorial maior do que o gamo. São espécies herbívoras que apreciam áreas montanhosas e de arvoredo com capacidade de superarem obstáculos como cercados com altura inferior a 2 metros (Acevedo *et al.*, 2008). Nestas espécies, principalmente no quadrante sudoeste da Península Ibérica, são frequentemente detetadas lesões tuberculosas, sendo assim, considerados reservatórios silvestres relevantes nesta área (Aranaz *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2006).

O javali e o veado estão, muitas vezes, associados espacialmente na Península

Ibérica, e a persistência de lesões compatíveis com TB é constantemente superior no javali que no veado (Vicente *et al.*, 2007).

O texugo (*Meles meles*) é um carnívoro social de hábitos noturnos, que se alimenta essencialmente de invertebrados e vegetais, como frutos e cereais, mas também de pequenos mamíferos e carcaças. Está amplamente distribuído pela Península Ibérica, todavia a sua população é maior no norte e na área de influência atlântica (Acevedo *et al.*, 2014). Além disso, é considerada uma espécie de relevância epidemiológica localmente, visto que, em Inglaterra, este é o principal reservatório silvestre do MCT (Hutchings & Harris, 1997), ao passo que na Península Ibérica não se sabe exatamente o seu papel na transmissão e manutenção da TB animal. É uma espécie não cinegética e, como tal, existe escassa informação sobre as suas tendências populacionais e estado sanitário (Acevedo *et al.*, 2014).

Convém também referir que há hospedeiros com baixa relevância epidemiológica para a TB, os designados hospedeiros acidentais, que na Península Ibérica são, principalmente, o corço (*Capreolus capreolus*), o muflão (*Ovis aries*), a cabra-montês (*Capra pyrenaica*) e a raposa (*Vulpes vulpes*) (PATUBES, 2017). Destas quatro espécies, a que maior preocupação causa é a raposa, já que na Galiza foram isoladas, nesta espécie, estirpes molecularmente iguais às encontradas em bovinos e javalis infetados com TB coabitantes com as raposas estudadas (Muñoz-Mendoza *et al.*, 2013). Quanto ao corço e à cabra-montês há evidências científicas que indicam que não resultam como bons hospedeiros para os agentes do MCT, visto nunca terem sido isoladas bactérias viáveis em casos TB positivos; já no caso do muflão, uma vez que se trata de uma espécie próxima da ovelha, não se pode descartar a sua participação localmente como reservatório silvestre de *M. bovis* (PATUBES, 2017).

Adicionalmente a TB pode desempenhar um papel relevante na conservação de espécies ameaçadas que habitam a Península Ibérica, posto que espécies como o lobo ibérico, o lince e o urso são vulneráveis à infeção por bactérias do MCT (Aranaz *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2013).

#### **2.1.4.2. Infeção e patogenia nos principais hospedeiros**

A patogenia e a gravidade resultante da infeção por *M. bovis* nos principais hospedeiros na Península Ibérica - bovino, javali e veado - constituem o resultado direto de fatores como a via de infeção e a dose infetante (Palmer, 2013).

Seja qual for a via de entrada da micobactéria no organismo, esta tem dois destinos, a saber: ou morre, ou forma o complexo primário tuberculoso, devido a uma reação de hipersensibilidade retardada (tipo IV) que o organismo desencadeia. Caso se forme o complexo primário (afeção do primeiro órgão que contacta com a micobactéria e gânglio linfático regional), este pode manter-se em latência durante vários anos, formar uma lesão localizada (designa-se TB primária) ou disseminar-se por todo o organismo. Quando se dissemina, dá origem a diversos sinais clínicos, entre outros, tosse, fraqueza, aumento de tamanho dos linfonodos e falta de apetite, designando-se esta fase de infeção clínica. Quando existe disseminação, a bactéria pode igualmente ficar em latência em outros órgãos distantes do complexo primário (Murakami *et al.*, 2009; Ferré, 2010; OIE, 2017). Sempre que a bactéria está em latência, esta pode reativar-se quando há quebra de imunidade, e entrar em circulação novamente, dando origem, nesse período, a sinais clínicos, por vezes anos após a infeção primária (Roxo, 1997; Ferré, 2010). O termo Tuberculose está mesmo relacionado com a patogenia descrita anteriormente, pois a palavra deriva dos nódulos de aspeto caseoso formados nos linfonodos dos animais infetados, designados de tubérculos (Roxo, 1997; OIE, 2017).

Na Península Ibérica, o principal reservatório da TB é o próprio gado bovino (Aranaz *et al.*, 2004). *M. bovis*, nos bovinos, afeta principalmente as vias respiratórias, contudo pode estender-se a outras áreas anatómicas. Está provado que os bovinos são muito suscetíveis à infeção respiratória, uma vez que, por esta via, a dose mínima com capacidade infetante é de apenas 5 bacilos (Corner, 2006).

Nos bovinos, a principal via de transmissão focaliza-se no intercâmbio de secreções respiratórias entre os animais infetados e os não infetados. O contacto pode ocorrer nariz a nariz ou por inalação de partículas de aerossol, quando são excretadas por um animal doente (Humblet *et al.*, 2009). Além de excretarem as bactérias por aerossol, os bovinos excretam-nas igualmente por outras secreções como saliva, fezes, urina e leite, assim como, por via uterina (Cross & Getz, 2006). As pastagens contaminadas por todas estas secreções infetadas podem representar a mais provável via de transmissão de *M. bovis* intra e inter-espécies (Serraino *et al.*, 1999).

Em menor número de ocasiões, os bovinos podem infetar-se por via digestiva, na medida em que, após ser ingerido, o *M. bovis* é suscetível ao poder antibacteriano das secreções gástricas. A dose mínima com capacidade de provocar infeção por esta via é muito superior àquela que é por via respiratória, sendo esta aproximadamente de  $10^7$

bacilos (Corner, 2006). Este contágio pode ocorrer por ingestão de comida contaminada (ração, pasto, fômites, entre outros) ou por água contaminada, onde animais infetados deixaram as suas secreções (Katale *et al.*, 2013).

A infecção nos javalis pode ocorrer muito cedo, durante o primeiro verão de vida, principalmente porque se contaminam por via do leite materno (Vicente *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2009). As lesões tuberculosas encontram-se com frequência nos gânglios linfáticos da cabeça, juntamente com afeção de outra região anatómica, como os pulmões. Os hábitos alimentares destes omnívoros, tais como a prática da escavação e a alimentação de carcaças, levam, diversas vezes, à ocorrência de traumatismos na cavidade oral, permitindo que essas fístulas na mucosa oral constituam a origem da entrada das micobactérias que persistem no meio ambiente. Após a entrada, estas colonizam os gânglios linfáticos da cabeça, como os retrofaríngeos e mandibulares (Dondo *et al.*, 2007; Boniotti *et al.*, 2014). Tal como nos bovinos, estes indivíduos podem infetar-se por via alimentar e, assim, as lesões tuberculosas serem encontradas nos gânglios mesentéricos (Santos *et al.*, 2009) podendo haver, esporadicamente, lesões hepáticas e em outros órgãos da cavidade abdominal. Ademais, à excreção oronasal, acrescenta-se a fecal e urinária, tal como acontece nos bovinos (Aranaz *et al.*, 2004; Ferré, 2010).

Os javalis são considerados "superexcretadores" e, quando a sua infecção por TB é generalizada, são provavelmente considerados os principais disseminadores de *M. bovis* no seu habitat natural, bem como em explorações bovinas próximas (Barasona *et al.*, 2016).

Evidências apontam para que os cervídeos sejam mais dificilmente infetados do que os javalis e estes, por si só, são menos propensos a apresentar sinais clínicos quando infetados (Vicente *et al.*, 2006), especialmente, no caso do veado vermelho, em que as lesões tuberculosas não têm um padrão anatómico tão definido como no javali (Nugent *et al.*, 2015).

Raramente são encontradas lesões nos pulmões e gânglios linfáticos regionais nos cervídeos, todavia quando as lesões granulomatosas são identificadas nos veados circunscrevem-se a pequenas áreas pulmonares e, nos gamos, a todo o pulmão (Aranaz *et al.*, 2004). Há por vezes registo de lesões no fígado e no baço destes animais (Ferré, 2010). Em ambientes mediterrânicos, um terço dos veados com TB, confirmada por métodos laboratoriais, apresentam lesões compatíveis com TB generalizadas à necrópsia (Vicente *et al.*, 2013). A sua via de infecção principal é a oral, alimentando-se, bebendo

ou lambendo algo contaminado pelo *M. bovis*. A via respiratória tem menor importância nos casos dos cervídeos, como prova o facto de se encontrarem poucas lesões tuberculosas a nível pulmonar (Nugent *et al.*, 2015). Os cervídeos podem excretar por diferentes vias, como oronasal e fecal, podendo, assim, contaminar solo, alimento, e água. Existe também a possibilidade de excreção no leite, constituindo esta a fonte de infeção dos indivíduos mais jovens (*idem, ibidem*).

## **2.2. TRANSMISSÃO DA TB ANIMAL NA INTERFACE: BOVINOS E CAÇA MAIOR**

A utilização do termo interface tem emergido nos últimos anos em diversos trabalhos no âmbito da biologia, ciências veterinárias e zootécnicas. Trata-se de um conceito que interliga o meio ambiente compartilhado por seres humanos e animais domésticos e, por estes e a fauna silvestre (Wilcox & Gubler, 2005).

A sanidade animal é um aspeto chave para a indústria agropecuária e para gestores de fauna silvestre, principalmente quando se trata de doenças como a TB de fácil transmissão entre as duas áreas, pelo que ambas as partes devem estar conscientes do impacto que esta pode provocar nas populações que gerem (Barasona *et al.*, 2015). Quando ligamos estes dois conceitos, interface e sanidade animal, podemos referir-nos à existência de uma interface sanitária (Kock, 2005).

Uma das formas de monitorizar e controlar o estado sanitário da fauna silvestre é obtendo informação sobre as espécies cinegéticas, concretamente antes, durante e pós-caçada, e através de censos da população realizados em algumas zonas de caça (Decreto-Lei n.º 202/2004). Assim, com a análise desses dados e outros relacionados com bovinos e programas de erradicação da bTB implementados na maioria dos países desenvolvidos, pode avaliar-se qual o estado desta interface sanitária entre bovinos e caça maior quanto à prevalência de TB e aos riscos associados à mesma (Richomme *et al.*, 2013).

Segundo Gortázar (2007), uma transmissão bidirecional de agentes patogénicos pode existir quando há contato entre espécies domésticas e silvestres e, não sendo assim a transmissão da micobactéria *M. bovis* entre espécies pecuárias e de caça maior uma exceção.

Existem diversos estudos por todo o mundo onde foi, por diversas vezes, referido que o perfil de *M. bovis* isolado em bovinos e em caça maior é igual quando as

amostras são recolhidas em áreas geográficas compartilhadas por estas espécies (Serraino *et al.*, 1999; Dondo *et al.*, 2007; Michel *et al.*, 2008; Meikle *et al.*, 2011; Di Marco *et al.*, 2012; Richomme *et al.*, 2013; Glaser *et al.*, 2016). Em Portugal existem estudos que vão nesse sentido, tal como o de Duarte *et al.* (2007), realizado numa exploração na região do Alentejo.

A transmissão inter-espécies de *M. bovis* depende de três premissas: excreção da micobactéria por parte do hospedeiro infetado, suscetibilidade à infeção por parte da espécie não-infetada (dois pontos revistos anteriormente neste trabalho) e frequência e tipo de contacto (direto vs indireto) entre duas espécies diferentes (Corner, 2006; Santos *et al.*, 2009; Nugent *et al.*, 2015).

Este contacto entre espécies hospedeiras da TB, tanto pecuárias (bovinos, caprinos, ovinos e suínos) como de caça maior (especialmente javalis, veados e gamos), é principalmente determinado pela atividade humana: padrões de pastoreio, maneo alimentar e de água ou quando existe uma promoção da abundância de espécies cinegéticas (situações de sobreabundância e elevada prevalência de TB sem controlo) (Di Marco *et al.*, 2012).

Como consequência destes três fatores, existem contactos diretos (contacto físico entre animais ou coincidência de duas espécies diferentes ao mesmo tempo num espaço muito próximo) ou indiretos, em que os animais utilizam os mesmos lugares, mas em períodos de tempo distintos (Cowie *et al.*, 2015a).

A alteração no ambiente/habitat natural pode resultar numa mudança de estrutura e organização da população silvestre, podendo ser responsável pelo aumento de interação entre espécies domésticas e silvestres facilitando a transmissão do *M. bovis*, levando a um aumento da prevalência da TB (Corner, 2006; Vicente *et al.*, 2013).

Os contactos diretos são infrequentes (Corner, 2006). Há diversos trabalhos publicados que utilizam armadilhas fotográficas em locais compartilhados por duas espécies distintas que provam que os contactos diretos ocorrem num número reduzido de vezes. Cowie e colaboradores (2016), num trabalho numa exploração na área de Cidade Real (Espanha), descrevem que apenas 0,38% das interações inter-espécies observadas foram de natureza direta. A espécie mais propensa a que a transmissão de *M. bovis* suceda diretamente é o javali, uma vez que, devido ao seu comportamento necrófago, ingere cadáveres infetados, sendo que o *M. bovis* pode sobreviver longos períodos nestes (Corner, 2006; Richomme *et al.*, 2010), e igualmente, devido à possibilidade de cruzamento com o porco doméstico (Mendoza, 2004). Assim fica claro

que a transmissão de *M. bovis* acontece essencialmente por contatos indiretos (Cowie *et al.*, 2016).

No centro e sul da Península Ibérica predomina o ambiente mediterrânico o que propicia o contato indireto entre espécies domésticas e de caça maior em pontos de alimentação e de abeberamento (pontos de agregação das espécies em questão), ocasionando uma transmissão horizontal de *M. bovis* (Di Marco *et al.*, 2012). Tal facto é diversas vezes descrito com base em trabalhos com uso de armadilhas fotográficas de campo em pontos de agregação como comedouros e bebedouros (Figura 3) (Cowie *et al.*, 2016).



**Figura 3.** Imagens de uma armadilha fotográfica colocada num ponto de alimentação para espécies cinegéticas. À esquerda, foto diurna de um bovino a alimentar-se e à direita, foto noturna de uma vara de javalis no mesmo local (fotografias gentilmente cedidas pelo Sr. Manuel Simões).

Diversos estudos desenvolvidos por equipas de investigação do IREC (Cowie *et al.*, 2015a) obtiveram conclusões a respeito do tempo e do lugar onde ocorrem com maior frequência os contactos entre bovinos e ungulados silvestres. As principais conclusões indicam que: as interações ocorrem em maior número na estação seca (na área mediterrânica esta considera-se entre o final da primavera e outono) e com maior frequência em pontos concretos, isto é, pontos de alimentação e água ou no ecótono (zona de transição ambiental rica em alimento para diferentes espécies). Ademais, a prevalência de TB nas espécies de caça maior está positivamente correlacionada com a incidência de TB nos bovinos.

Existem poucos estudos sobre a frequência e tipo de contato entre as espécies pecuárias e os hospedeiros de menor relevância epidemiológica como o texugo, o corço e a raposa, mas sabe-se que estes frequentam pontos de agregação de espécies hospedeiros de TB (Figura 4) (PATUBES, 2017).



**Figura 4.** Fotografias de uma armadilha fotográfica, colocada num local de suplementação alimentar para espécies cinegéticas, onde se observa a presença de um texugo (esquerda), uma raposa (centro) e dois javalis (direita). (fotografias gentilmente cedida pelo Sr. Manuel Simões).

### 2.2.1. Fatores de risco para a transmissão intra e inter-espécies

A identificação dos reservatórios silvestres de *M. bovis* e a dos fatores de risco associados à sua presença é crucial na escolha e implementação de medidas eficazes de controlo de TB animal (Di Marco *et al.*, 2012).

À exceção dos bovinos, não se conhece qual a dose mínima infetante para os diferentes hospedeiros silvestres de TB na Península Ibérica (javali, veado e gamo), além de que não há estudos suficientes que indiquem qual a facilidade dos substratos contaminados com *M. bovis* (água, solo, pastos, lama, entre outros) originarem uma infeção efetiva nos múltiplos hospedeiros que contactam com eles (Corner, 2006).

Aparte destes, estão descritos os riscos intra-espécies inerentes a cada espécie silvestre hospedeira de TB para que estas se infetem com maior facilidade e posteriormente transmitirem a infeção aos bovinos; aspeto fulcral na interface sanitária em estudo nesta dissertação.

Nos javalis, em termos individuais, podemos dizer que a idade crescente e a predisposição genética constituem riscos a ter em conta; em termos de grupo social, referenciam-se como riscos, de entre os quais explicitamos a escassa variabilidade genética, a densidade populacional (em marcado aumento na Península Ibérica), a localização e o ambiente do habitat (identificação da flora envolvente), a agregação espacial (principalmente, em pontos de água e comedouros), o contacto com outros hospedeiros de TB, partilha de pastagens, permanência em áreas restritas cercadas, as coinfeções e o comportamento necrófago oportunista (Vicente *et al.*, 2007; Santos *et al.*, 2009; Risco *et al.*, 2014). Para os cervídeos, veado e gamo, está descrito que machos

mais velhos têm maior prevalência de lesões compatíveis com TB. Em termos populacionais, os fatores de risco são, em termos práticos, os mesmos que para os javalis (Schmitt *et al.*, 1997; Vicente *et al.*, 2006; Vicente *et al.*, 2007). A existência de uma indústria cinegética em algumas zonas da Península Ibérica em que as espécies de caça maior estão restritas (por meio de um cercado de tipo cinegético) a uma determinada área, potencia a ação destes fatores de risco (Vicente *et al.*, 2013).

Os bovinos são suscetíveis à infecção por este agente por um número variado de vias e para cada uma delas a sua suscetibilidade difere, o que leva a um grande número de fatores de risco bovino-bovino (Corner, 2006). No que concerne à transmissão do *M. bovis* inter-espécies - bovinos e caça maior - há diversos estudos que indicam que, na Península Ibérica, o principal fator de risco para a contaminação de bovinos focaliza-se na presença de ungulados silvestres infetados nas áreas de pastoreio de bovinos (Richomme *et al.*, 2013), uma vez que os cercados que envolvem as explorações pecuárias são normalmente ineficientes a isolar os bovinos, posto que os ungulados conseguem ultrapassá-los.

Há quatro fatores de risco recorrentemente referenciados na literatura como promotores da transmissão bidirecional do agente patogénico, de entre os quais se salienta a partilha de espaço entre bovinos infetados e espécies de caça maior suscetíveis, e vice-versa; a suplementação artificial das espécies de caça maior; a ineficiente vigilância do risco de transmissão de TB; e o não reconhecimento de outras espécies silvestres que emergem como novos hospedeiros reservatório (Miller & Sweeney, 2013; Nugent *et al.*, 2015).

Os hábitos, tanto de espécies domésticas como silvestres, de se alimentarem e beberem água nos mesmos locais, leva a que estes pontos de agregação (naturais ou artificiais) sejam a possível fonte de infecção inter-espécies, quando, nessa área, exista pelo menos um indivíduo de uma das espécies infetado por *M. bovis* (Duarte *et al.*, 2007; Rodriguez-Prieto *et al.*, 2012). Assim, o conhecimento destes fatores de risco torna-se importante, visto que a sua análise permite implementar e sugerir medidas de controlo da TB na interface bovinos e caça maior (Miller *et al.*, 2012).

### 2.3. CONTROLO DA TB ANIMAL EM BOVINOS E CAÇA MAIOR

Para um eficiente controlo da TB animal em todo o mundo, programas baseados em teste e abate de bovinos devem ser implementados e, estes podem ser uma fiável medida de controlo efetivo da infeção (Cosivi *et al.*, 1998; Rodriguez-Prieto *et al.*, 2012).

Em Portugal existe em ação um Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina (DGV, 2015). Após evidências comprovadas do agente *M. bovis* em espécies de caça maior em Portugal, configurou-se este como um entrave à erradicação da bTB em Portugal, dando assim origem ao Edital N°1 - Tuberculose em caça maior (DGV, 2011).

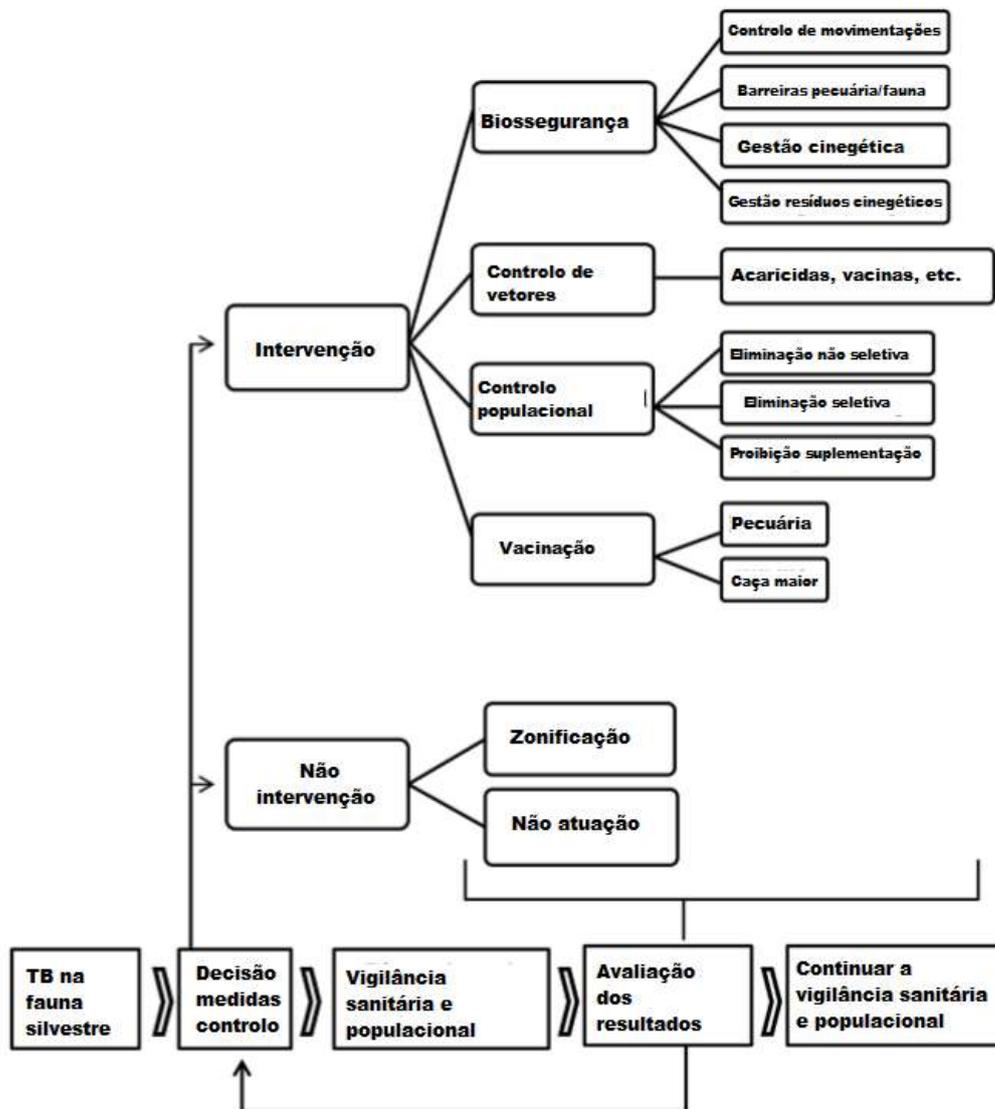
A erradicação da bTB é sempre possível quando se mantém a integridade do efetivo (funciona como unidade epidemiológica) e todos os reservatórios e fatores de risco se eliminem ou controlem. Num sistema multi-hospedeiros como o da Península Ibérica, a erradicação é muito difícil e assim, deve ter-se em conta que o controlo sanitário é a opção mais realista a médio prazo (Ferré, 2010; Miller *et al.*, 2012; Gortazar *et al.*, 2015b).

O controlo sanitário tem como objetivo principal minimizar ao máximo os efeitos negativos de uma infeção compartilhada por diversos hospedeiros sobre a sanidade animal, saúde pública e economia (Gortazar *et al.*, 2015a). Para que um plano de controlo sanitário seja desenhado para uma determinada doença, deve traçar-se antecipadamente um diagnóstico epidemiológico, aprofundando, desta forma dados populacionais e sanitários da área em questão. É imperativo estudar as espécies suscetíveis, delimitar e caracterizar a área a intervir e saber qual a prevalência da doença, que, neste caso, será a bTB (Gortazar *et al.*, 2011; Miller *et al.*, 2012).

A decisão das medidas de controlo devem basear-se em 3 princípios fundamentais, a saber: estratificação (havendo uma definições de diferentes zonas: áreas a intervir/não intervir ou área de risco/ não risco); boa vigilância sanitária e populacional; e integração de diversas medidas de controlo de forma a originar um efeito sinérgico das mesmas (Gortazar *et al.*, 2015a).

É importante complementar os programas de erradicação europeus, implementando medidas específicas de combate à TB direcionadas para a fauna silvestre (Boniotti *et al.*, 2014), na medida em que esta é considerada a causa do insucesso deste programa em quase 30% dos casos (European Commission, 2012) e, em

Portugal, em 2014, 50% dos inquéritos epidemiológicos de explorações afetadas indicavam o possível contacto entre bovinos e ungulados silvestres (DGV, 2015). Num estudo de Górtazar e colaboradores, que data de 2015a, é apresentado um diagrama resumo (Figura 5) sobre as decisões e opções de intervenção a nível sanitário na fauna silvestre para qualquer agente infeccioso. Este pode ser adaptado ao caso da TB na fauna silvestre, tendo em conta as opções de controlo mais adequadas como a biossegurança, o controlo populacional e a vacinação.



**Figura 5.** Diagrama resumo sobre as decisões e opções de intervenção a nível sanitário na fauna silvestre (adaptado de Górtazar *et al.*, 2015a).

### **2.3.1. Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina**

Desde 1987, em coordenação com a C.E., tem-se estado a aplicar em Portugal um programa de erradicação da tuberculose bovina. Em 1993, este programa foi consolidado e registou-se um grande progresso, levando mesmo a que a região do Algarve, em 2012, tenha sido considerada indemne de TB. Dados de 2014 demonstram que a prevalência de TB no continente português decresceu cerca de 34% nos cinco anos anteriores (DGAV, 2016).

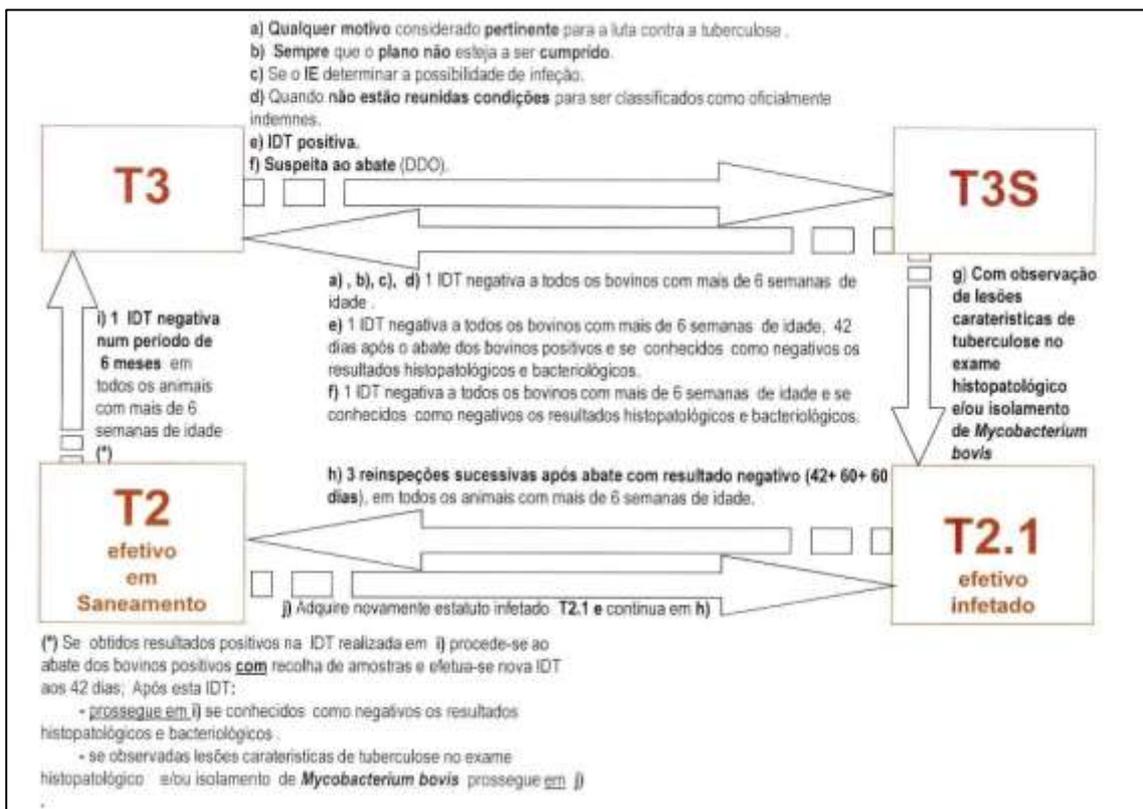
Este programa tem na sua origem princípios como o da deteção em vida de animais TB positivos, atribuição de uma classificação sanitária às explorações de bovinos, vigilância em matadouro rotineiramente e o abate compulsivo caso haja confirmação laboratorial após ao diagnóstico positivo em vida (responsabilidade dos serviços oficiais da DGAV). Estão também previstas, neste programa, as medidas de profilaxia e de restrição de circulação animal, caso se verifique positividade. Deve igualmente proceder-se a uma investigação epidemiológica em novos casos positivos e direcionar as medidas para o resultado da causa do foco de bTB (DGAV, 2016; Fonseca, 2011). Quem assegura todo este procedimento, de acordo com o Decreto-Lei n.º272/2000, é a DGAV responsável pela definição de estratégias, coordenação, controlo da execução e auditoria do programa. Pela impossibilidade da execução em campo ser realizada pela própria DGAV, esta delega essa responsabilidade às ADS (Agrupamentos de defesa sanitária). Estas associam os produtores de uma determinada região, sendo responsável pelo seu plano profilático e de saneamento (DGV, 2005).

A prova oficial em vida para o rastreio da bTB em bovinos, é a prova da interdermotuberculinização comparada (IDTC), realizada pelos médicos veterinários executores designados pelas ADS (*idem, ibidem*). E a responsabilidade do diagnóstico laboratorial é do Instituto Nacional de Investigação agrária e veterinária I.P. (INIAV. I.P.) e do Laboratório Veterinário de Montemor-o-Novo - COPRAPEC, sendo que este último não pode realizar os testes laboratoriais *post-mortem* (DGAV, 2016).

A reação ao teste da IDTC é observada 72h após a inoculação, procedendo-se desta forma à identificação de animais positivos, negativos ou duvidosos. A classificação é: negativa, se reação bovina negativa ou positiva mas igual ou inferior à reação aviária e na ausência de sinais clínicos em ambos os casos; duvidosa, se reação bovina positiva ou duvidosa e superior em 1 a 4 mm em relação à reação aviária e na ausência de sinais clínicos; positiva, se reação bovina superior a 4 mm em relação à

aviária ou presença de sinais clínicos. Os animais positivos são submetidos a abate sanitário dentro dos 30 dias seguintes à notificação oficial do proprietário e os classificados como duvidosos são submetidos a nova prova num prazo mínimo de 42 dias após notificação oficial. Por outro lado, os que não são submetidos a este novo controlo consideram-se positivos (Decreto-Lei n.º272/2000; DGV, 2005).

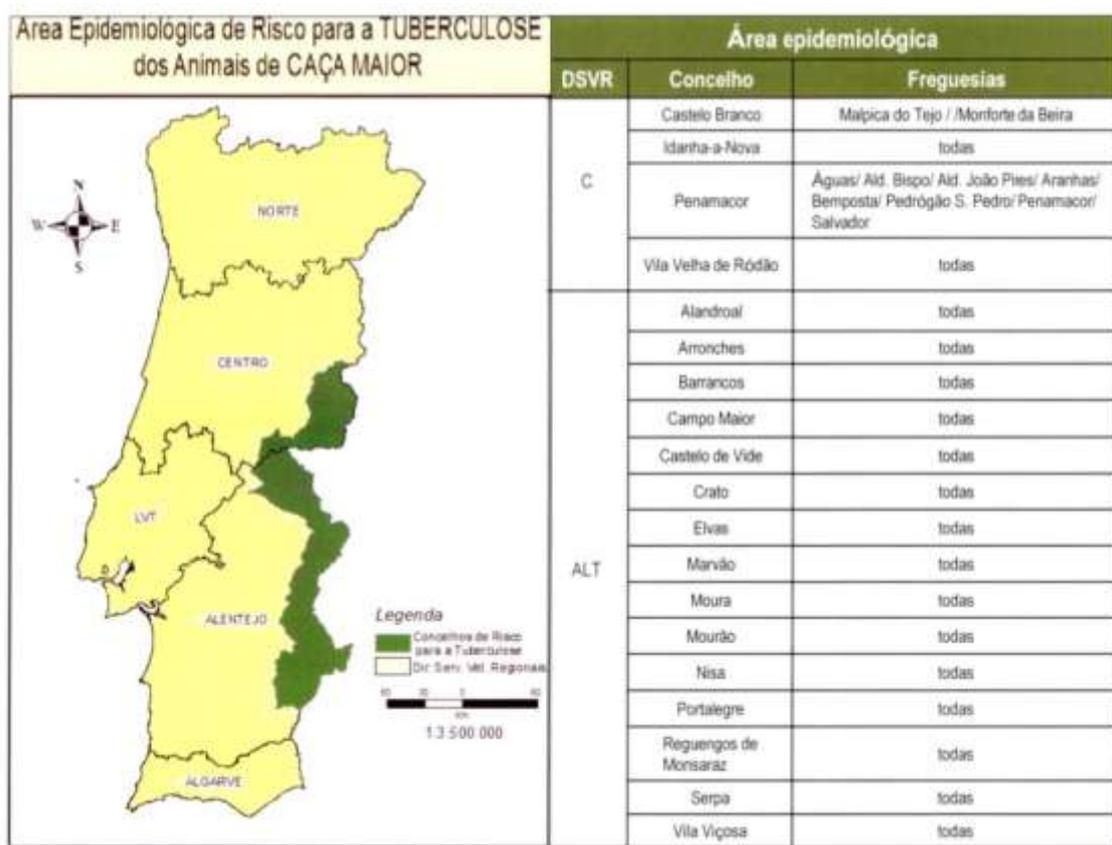
Após o diagnóstico em vivo e segundo os resultados do teste de IDTC nos animais de uma exploração, esta é classificada em quatro estatutos: T2.1, T2, T3 e T3S (Figura 6). Explorações com o estatuto T2, T2.1 e T3S apenas efetuam movimentações com destino a abate sob controlo oficial (Decreto-Lei n.º272/2000; DGAV, 2015; ACOS, 2016). É considerado infetado um efetivo de bovinos que contém animais que nos exames laboratoriais *post mortem* apresentarem lesões anatomopatológicas características da doença e nos quais tenham sido isoladas agentes do género *Mycobacterium* (*M. bovis* e *M. tuberculosis*), segundo o Decreto-Lei n.º 31/2005.



**Figura 6.** Esquema dinâmico de transferência dos estatutos sanitários das explorações submetidas aos Programas Nacionais de Erradicação da Tuberculose bovina (adaptado de DGAV, 2016).

### 2.3.2. Aplicação do Edital N°1 - Tuberculose em caça maior

Em Portugal, a par da aplicação do Programa de Erradicação da Tuberculose bovina, em Abril de 2011, foi apresentado o Edital N°1 - Tuberculose em caça maior pela Direção Geral de Veterinária (DGV, 2011). Este é aplicável em zonas identificadas como áreas de risco elevado para TB em animais de caça maior (Figura 7), principalmente veados, gamos e javalis, incluindo 4 concelhos do Centro de Portugal (94 zonas de caça) e 12 do Alentejo (199 zonas de caça) (Vaz, 2017).



**Figura 7.** Mapa a assinalar a área epidemiológica de risco para a tuberculose dos animais de caça maior (adaptado de: Edital N°1 - DGV, 2011).

Envolve a cooperação dos serviços oficiais, médicos veterinários, caçadores e gestores das zonas de caça (ZC) inseridos na área identificada como de risco para a aplicação de medidas a serem cumpridas em batidas, montarias e em ações de correção da densidade populacional com recurso à utilização de cães, com exceção das esperas (*idem, ibidem*). Há responsabilidades atribuídas a todos os intervenientes (Figura 8). As entidades cinegéticas gestoras devem comunicar à direção de serviços veterinários da

região em causa onde terá lugar a ação com uma antecedência mínima de 48h, assegurar condições no local e o material necessário para realização do exame inicial e evisceração, assegurar a presença de um médico veterinário (MV) designado e cumprir as suas instruções e assegurar o encaminhamentos dos subprodutos. O médico veterinário deve efetuar o exame inicial e recolher amostras, coordenar a higiene e destino dos subprodutos e comunicar os resultados aos serviços oficiais; a DGV deve coordenar medidas, realizar o tratamento dos dados e fazer o acompanhamento epidemiológico; a ASAE e SEPNA em conjunto têm a função de fiscalização (Lamela, 2011).



**Figura 8.** Fluxograma de informação e partilha de resultados entre as entidades designadas pelo Edital Nº1. DGV - Direção Geral de Veterinária; MV - médico veterinário; LNIV - Laboratório Nacional de Investigação Veterinária (adaptado de Lamela, 2011).

Como referido anteriormente, o diagnóstico *in vivo* da TB em animais silvestres é de difícil prática, por conseguinte, deve-se proceder a esse diagnóstico *post-mortem* sempre que possível de forma a se obter dados epidemiológicos relevantes quanto à prevalência (Palmer, 2013). Essa premissa é uma das bases da aplicação deste Edital Nº1 em Portugal, havendo a obrigatoriedade da examinação por um MV designado de todas as reses abatidas nas condições descritas anteriormente.

A inspeção sanitária *in loco* das reses de caça maior deve ser um processo metódico e sequencial. Sendo feita primeiramente uma avaliação da carcaça exteriormente e só posteriormente inspeção e incisão dos órgãos potencialmente afetados, conhecendo previamente quais os prioritários na espécie em causa (Vieira-

Pinto & Serejo, 2011). O MV designado deve colocar um selo oficial da DGV nas reses aprovadas e rejeitar aquelas, cuja carne apresente alterações com risco sanitário e recolher e encaminhar amostras para diagnóstico laboratorial de lesões suspeitas de tuberculose (DGV, 2011).

Segundo resultados apresentados pelos serviços oficiais em 2017 e com base nos relatórios entregues pelos MV designados, este Edital N°1, em 5 anos, foram encontrados 7% de javalis suspeitos de TB (sendo, 5% confirmados laboratorialmente) e 4,4% de veados (4,1% confirmados). Foi também, encontrado 1 gamo e 1 muflão positivos. Todos estes dados sugerem que houve 19,2% das jornadas de caça realizadas neste período com pelo menos um animal com lesões compatíveis com TB (Vaz, 2017).

Em seguida neste trabalho serão exploradas as opções de controlo de TB descritas pelos especialistas como complementares aos dois programas de controlo de TB implementados em Portugal descritos nos pontos anteriores. Por conseguinte, em áreas de maior risco de TB parece oportuno estabelecer medidas de luta contra a infeção em espécies silvestres, como por exemplo, o controlo populacional, imunização dos reservatórios e a aplicação de barreiras preventivas e de biossegurança. Para que se consiga um melhor resultado no combate à TB, estas estratégias disponíveis devem ser combinadas de forma a esperar-se um efeito sinérgico e eficaz (Gortazar *et al.*, 2015a).

### **2.3.3. Controlo populacional na fauna silvestre**

O controlo populacional na fauna silvestre é difícil de realizar, sendo que o meio mais acessível de o efetuar é controlar a população de espécies cinegéticas com o especial contributo de caçadores, gestores e proprietários de explorações/zonas de interesse cinegético, uma vez que, neste campo existe maior facilidade de realizar estudos epidemiológicos mais aprofundados devido ao interesse económico da área. Por conseguinte, as espécies reservatório de TB na Península Ibérica onde este controlo pode ser realizado com melhores resultados são o javali e o veado (Lopes, 2011; Armenteros *et al.*, 2013; Caro *et al.*, 2014).

O controlo populacional da fauna silvestre como medida de intervenção na prevenção e mitigação da TB em fauna silvestre pode ser realizada essencialmente por três formas: redução do aporte alimentar e eliminação seletiva ou não seletiva.

### **2.3.3.1. Redução do aporte alimentar**

A densidade populacional está diretamente relacionada com a disponibilidade de recursos (alimento e água), sejam estes naturais ou artificiais. E a alta densidade populacional constitui um fator de risco intra-espécie de transmissão de TB na fauna silvestre (Armenteros *et al.*, 2013; Barasona *et al.*, 2015).

Apesar dos caçadores e gestores cinegéticos olharem para a suplementação alimentar das espécies cinegéticas como uma forma de aumento do rendimento das caçadas, esta é uma prática que se deve proibir de forma a controlar o aumento da densidade populacional que favoreça a prevalência de TB para níveis incontrolláveis (Gortazar *et al.*, 2011; Cowie *et al.*, 2015b; Gortazar *et al.*, 2015a). O controlo reprodutivo, e principalmente a sua inibição, é um fator a ter em conta no controlo da população e este pode ser executado em paralelo com a diminuição de aporte alimentar (Ferré, 2010).

### **2.3.3.2. Eliminação não seletiva**

Citando Rupprecht, a eliminação não seletiva de toda uma espécie reservatório de TB numa área não é ética, nem aceite a nível ecológico, uma vez que a dinâmica do ecossistema seria afetada e haveria efeitos indiretos sobre outras espécies (Gortazar *et al.*, 2015a). A eliminação não seletiva somente pode ser aplicada se o ciclo infeccioso é totalmente conhecido (reconhecendo todas as interações hospedeiros-meio-vetores), se a resposta da população silvestre à eliminação é conhecida e se existe um efeito custo-benefício aceitável (*idem, ibidem*).

Medidas deste género em espécies invasoras ou cinegéticas em sobreabundância, e igualmente em locais onde existe uma proibição da suplementação alimentar ou um manejo sustentável do habitat não devem ser aplicadas (*idem, ibidem*). Há diversos estudos que sustentam a ideia de que nestes casos deve optar-se por outras medidas de controlo sanitário (Caro *et al.*, 2014).

### **2.3.3.3. Eliminação seletiva**

É uma opção ecologicamente mais aceite e deve proceder-se apenas à eliminação dos indivíduos infetados pela TB (Michel *et al.*, 2006). No caso de espécies hospedeiras da TB esta separação em animais infetados e não infetados pode realizar-se pela identificação de animais sintomáticos ou por diagnóstico laboratorial *in vivo* adequado à espécie a estudar, como, por exemplo, no caso dos javalis e porco doméstico, este é possível por prova de ELISA (Mendoza, 2004; Armenteros *et al.*, 2013).

O resultado esperado numa população sujeita a uma eliminação seletiva é a diminuição da prevalência da infeção em hospedeiros silvestres e domésticos, mas este nunca origina uma erradicação total de *M. bovis* (Ferré, 2010).

### **2.3.4. Imunização de reservatórios**

A imunização por si só é uma medida de controlo válida para agentes infecciosos, contudo em sinergia com um controlo populacional avista-se como um conjunto de medidas forte e com grande futuro na luta contra a TB na fauna silvestre (Vicente *et al.*, 2013).

A vacina BCG é uma vacina viva utilizada em medicina humana, que utiliza o agente *M. bovis* modificado, atuando contra os agentes do MCT, todavia em animais em Portugal não está autorizada. Noutros países europeus, a aplicação desta vacina na população animal tem possibilitado a diminuição das lesões e por conseguinte, diminuir a percentagem de indivíduos excretadores e as possibilidades de transmissão intra e inter-espécies. Esta é considerada ainda mais eficaz quando o foco é a população animal mais jovem (Cross & Getz, 2006).

Esta vacina em espécies silvestres, foi inicialmente utilizada em texugos no Reino Unido e Irlanda, existindo inclusive outros estudos sobre a utilização desta em búfalos na África do Sul (Cross & Getz, 2006; Gortazar *et al.*, 2015b). Na Península Ibérica, foi testada por via oral, em grande escala, em javalis, com uso principalmente de iscos na natureza (Beltrán-Beck *et al.*, 2012).

Mas esta vacina, infelizmente, contém a micobactéria viva, o que requer ser mantida no frio levando à necessidade de um acondicionamento especial e um aumento dos custos de aplicação desta em campo. Pode também ser considerado um problema

nos programas nacionais de erradicação da TB em bovinos, uma vez que caso estes a ingiram, a micobactéria vai influenciar o teste de IDTC, ocasionando falsos positivos (*idem, ibidem*).

Atualmente, em Espanha, está a ser desenvolvida pelo IREC, uma bacterina inativada que atua apenas em suínos, assim sendo pode ser utilizada para a imunização de javalis. Esta bacterina tem uma eficácia igual ou superior à da vacina BCG e tem como principal vantagem, a sua segurança para outras espécies e a não necessidade de um processo de conservação especial (Diez-Delgado *et al.*, 2016).

A imunização deve ser tida em conta como uma ferramenta complementar às medidas preventivas e de biossegurança e ao controlo populacional (Cross & Getz, 2006).

### **2.3.5. Medidas preventivas e de biossegurança**

As medidas preventivas e de biossegurança são uma forma de controlo da TB aceite mundialmente, todavia são demonstradas algumas reservas por parte daqueles que necessitam de investir e efetuar a sua aplicação em campo, tais como caçadores, gestores cinegéticos e agricultores (Cowie *et al.*, 2015b). Segundo Enticott (2008), para que estas medidas sejam efetivamente aplicadas e com resultados futuros positivos, deve ter-se em conta a população em causa, o maneio e as infraestruturas previamente disponíveis.

Apontam-se quatro pontos essenciais a trabalhar quando a doença em causa é a TB e o seu ciclo silvático como potencial fator de risco para animais domésticos, a saber: o controlo de movimentações, os planos de biossegurança em explorações extensivas de bovinos, as boas práticas de gestão cinegética e a correta eliminação de subprodutos; estes são essenciais na prevenção da transmissão da TB na interface: bovinos e fauna silvestre (AFN *et al.*, 2010; Górtazar *et al.*, 2015a) e serão resumidamente apresentados de seguida.

#### **2.3.5.1. Controlo de movimentações**

Uma das medidas preventivas de introdução da TB em áreas indemnes, é o controlo de movimentações de animais, nomeadamente de áreas não indemnes para indemnes (Ferré, 2010). Deve haver um controlo rigoroso de explorações tanto de

aptidão pecuária como cinegética e evitar o frequente intercâmbio de animais entre explorações, principalmente as que são mais suscetíveis à infecção. Na gestão cinegética é relevante o caso dos repovoamentos; estes, devem sempre ser realizados com garantias que a exploração/área donde são provenientes os animais é uma área indemne (Armenteros *et al.*, 2013).

Aconselha-se a fazer um diagnóstico em vida de TB às espécies em causa antes da movimentação. Pode-se realizar alguns testes de diagnóstico *in vivo*, como a título de exemplo, nos suínos domésticos e silvestres realização do teste de ELISA e IDTC, nos cervídeos, IDTC ou ELISA (combinando os dois testes no caso dos gamos) e em pequenos ruminantes pode ser usado IDTC simultaneamente com teste de IFN-  $\gamma$  ou para o caso da totalidade do efetivo, o teste de ELISA em larga escala (PATUBES, 2017).

#### **2.3.5.2. Melhoria das medidas de biossegurança em explorações pecuárias**

Cada exploração pecuária, em foco as que criam bovinos e caprinos, deve desenhar, implementar e seguir regras de biossegurança específicas de forma a mitigar o risco de aparecimento de TB nas suas espécies domésticas originária na fauna silvestre (Martínez-Guijosa *et al.*, 2016).

Os principais fatores de risco de TB (Tabela 1) em explorações pecuárias extensivas em clima mediterrânicos podem ser categorizados consoante riscos relativos à exploração e manejo, à paisagem e clima ou à presença de hospedeiros silvestres (PATUBES, 2017).

**Tabela 1.** Principais fatores de risco identificados em explorações pecuárias relativas à TB em climas mediterrâneos, segundo a literatura científica (adaptado de PATUBES, 2017).

<u><b>Categoria do risco</b></u>	<u><b>Fatores de risco identificados</b></u>
<u><b>Exploração/manejo</b></u>	<p>Densidade animal;</p> <p>Área da exploração;</p> <p>Histórico da TB na exploração;</p> <p>Existência de explorações vizinhas infetadas;</p> <p>Tipo de exploração: animais de lide &gt; carne &gt; leite;</p> <p>Alimento no solo em grande volume;</p> <p>Contacto com outras espécies suscetíveis como suínos, caprinos e ovinos...</p>
<u><b>Paisagem e clima</b></u>	<p>Existência de uma zona florestal, combinada ou não com áreas de pastoreio e cultivo;</p> <p>Zonas frias e secas;</p> <p>Áreas com poucos rios e ribeiros.</p>
<u><b>Hospedeiros silvestres</b></u>	<p>Proximidade a áreas de prática cinegética;</p> <p>Presença de reservatórios silvestres na área;</p> <p>Abundância de espécies cinegéticas como javali e veado;</p> <p>Prevalência de TB em javalis, veados e gamos;</p> <p>Interações inter-espécies por contato direto ou indireto.</p>

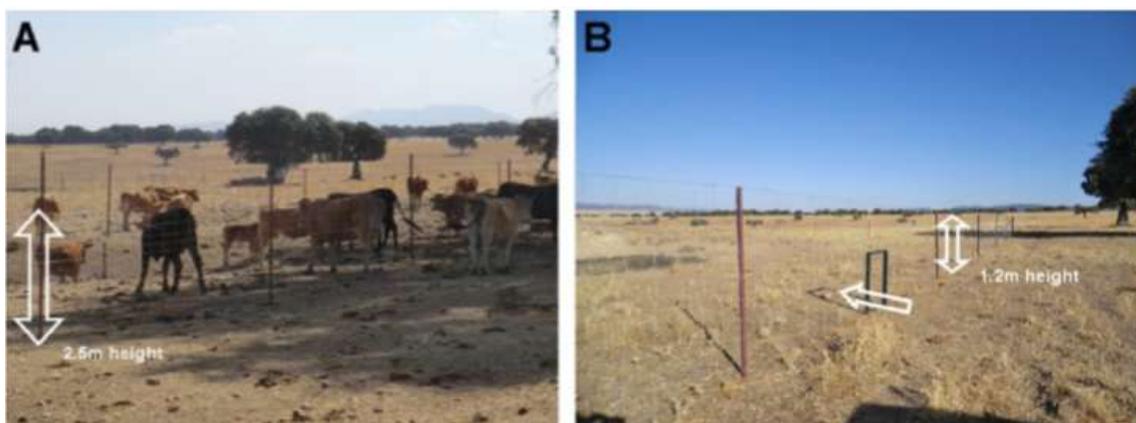
Existem diversas possibilidades de mudanças no manejo tradicional de explorações pecuárias de forma a resolver problemas de biossegurança específicos, de forma a mitigar o contacto direto e indireto entre bovinos e ungulados silvestres. A título de exemplo, planificar o uso dos pastos em espaço e tempo (estações do ano, hora do dia, entre outros), alterar a forma de alimentar os bovinos no interior da exploração, ou mesmo, aconselhar a troca de espécies pré-existentes por outras menos suscetíveis à TB, como por exemplo, no caso da existência de pequenos ruminantes, priorizar os

efetivos de ovinos em relação aos caprinos que são mais suscetíveis (Vicente *et al.*, 2013).

As questões base para a criação de um plano de biossegurança devem ser baseadas em informação geral da exploração, no manejo alimentar dos bovinos, na forma e condições de armazenamento do alimento, nas fontes de abeberamento dos bovinos e na atividade da fauna silvestre na área envolvente (MSU, 2009).

São conhecidos diversos estudos, que sugerem que os pastos, pontos de alimentação e de água e áreas de armazenamento de alimento são os locais de explorações pecuárias onde mais facilmente se pode implementar medidas de biossegurança. Conseqüentemente, um plano de biossegurança deve ser focado na resposta pela parte do proprietário às seguintes perguntas: Como são alimentados os bovinos? Onde? Quando? Qual a quantidade de alimento administrada? Onde é armazenado o alimento? Quais os pontos de abeberamento dos bovinos? (MSU, 2009).

A medida mais utilizada nos planos de biossegurança é o uso de barreiras que impeçam o contacto inter-espécies (Figura 9): estas podem ser cercados exteriores da exploração de tipo cinegético (malha forte e com mais de 2,20 metros de altura e com pelo menos 0,5m de profundidade), pequenas divisórias de parcelas da exploração ou o isolamento de pontos de água. A maior desvantagem desta medida é o elevado custo, tanto dos cercados utilizados como da mão-de-obra para a colocação das mesmas (Barasona *et al.*, 2013).



**Figura 9.** Uso de barreiras de acesso a pontos de agregação. A- barreira impermeável para ungulados silvestres; B - barreira permeável a ungulados, mas impermeável a bovinos (figuras adaptadas de Barasona *et al.*, 2013).

É aconselhável que um programa específico de biossegurança para explorações pecuárias siga diversas premissas, tais como: efetivo, prático e realista. Efetivo,

minimizando contatos inter-espécie tanto diretos como indiretos; prático, uma vez que deve ser realizável pelo proprietário e realista, já que não se consegue eliminar a 100% o risco de TB na exploração (Martínez-Guijosa *et al.*, 2016). Afinal, é bom ter em mente que este plano tem como objetivo atenuar e não erradicar por completo esse risco (Miller *et al.*, 2012). Quem delinea um plano de biossegurança específico, deve ter sempre em conta que o Programa Nacional de Erradicação da bTB tem de estar integrado neste plano, pois sem as ações de despiste da bTB, qualquer medida de biossegurança é relegada para segundo plano (Martínez-Guijosa *et al.*, 2016).

### **2.3.5.3. Aplicação de boas práticas de gestão cinegética**

A gestão cinegética tem capacidade de influir no estado sanitário da própria fauna silvestre e das espécies pecuárias tanto de forma positiva, nomeadamente na eliminação dos indivíduos doentes, como de forma negativa com a introdução de animais doentes para uma área limpa de infeção (Barasona, 2015).

Um programa de controlo da TB que envolva as espécies domésticas e cinegéticas, apenas pode ter sucesso, caso haja cooperação de todos os setores intervenientes. Para tal, todos devem aceitar e adotar boas práticas de manejo e biossegurança, contando sempre com os riscos intra e inter-espécies de transmissão de TB (Lopes, 2011; Miller *et al.*, 2012). Nesta medida tem que existir o envolvimento dos gestores cinegéticos e tal como, as explorações pecuárias também, as de aptidão cinegética devem ter um plano de biossegurança específico para cada uma, principalmente aquelas com gestão privada - Zonas de caça turísticas (ZCT) (Caro *et al.*, 2014).

Há uma panóplia muito variada de medidas que uma gestão cinegética cuidada e interessada na mitigação da TB nos ungulados silvestres deve contemplar, tais como:

- Quando há contiguidade de explorações pecuárias, principalmente de bovinos e caprinos com a ZC, deve proceder-se à separação de ungulados domésticos e silvestres em parcelas distintas usando meios de contenção eficazes e específicos (Mendoza, 2004; Armenteros *et al.*, 2013; Caro *et al.*, 2014).

- Evitar sobreabundância de espécies silvestres (Lopes, 2011; Caro *et al.*, 2014), podendo aumentar o número de jornadas de caça para diminuir a densidade. Existem quatro sinais de sobreabundância: efeitos nocivos na vegetação, terra e fauna, má

condição corporal dos indivíduos baixando o número de troféus, aumento da carga parasitária e alta prevalência de doenças infecciosas (Ferré, 2010);

- Evitar a introdução de ungulados, exceção feita quando estes são provenientes de fontes com garantias sanitárias, e preferencialmente com o diagnóstico *in vivo* prévio realizado (Ferré, 2010);

- Proibir a suplementação alimentar, particularmente se se tratam de terrenos cinegéticos abertos (Vicente *et al.*, 2013);

- Aporte alimentar seletivo (destinar um determinado alimento a uma determinada espécie), de forma a evitar a indiferenciação de alimento que leva ao contato inter-espécies. Há gestores que optam pelo uso de paisagens heterogêneas, que intercalam parcelas de cultivo com outras de não cultivo e pequenas manchas de vegetação natural (Caro *et al.*, 2014);

- Não transportar animais da zona de risco elevado para uma zona de risco inferior (Armenteros *et al.*, 2013);

- Maximizar o número de pontos de água (priorizar rios e charcas de grande diâmetro em relação aos restantes) e optar por estratégias de acessibilidade aos pontos de elevado risco de persistência micobacteriana, diminuindo a probabilidade de contacto, principalmente em alturas de menos recursos como a época seca (Vicente *et al.*, 2013);

- Eliminar de forma seletiva os ungulados silvestres visivelmente doentes (Armenteros *et al.*, 2013).

#### **2.3.5.4. Gestão dos resíduos de caça**

Uma gestão correta dos resíduos de caça limita a disseminação da TB, visto que a eliminação das carcaças e vísceras provenientes de animais infetados, caso não sejam corretamente geridas, são uma fonte de disseminação ambiental de agentes patogénicos. Tornam-se um fator de risco de infeção caso alguma espécie suscetível se alimente ou contacte com elas (Ferré, 2010).

Segundo o Edital N°1 em Portugal são os gestores cinegéticos que devem encaminhar os subprodutos, mas é o médico veterinário que deve fazer a supervisão desta ação. Em Portugal, ainda não existe legislação específica para esta prática, apenas esta nota neste edital, contrariamente a Espanha em que existem regulamentos específicos para esta prática (DGV, 2011; Armenteros *et al.*, 2013).

Os Regulamentos (CE) nº 1069/2009 e 142/2011 que regulamentam o destino dos subprodutos de origem animal não destinados a consumo não se aplicam aos subprodutos de caça selvagem, aplicando-se apenas aos subprodutos animais que decorrem da atividade dos estabelecimentos de preparação de caça e aos usados na preparação de troféus de caça.

Caso se observe boas práticas de caça, os subprodutos de caça podem ser eliminados com segurança no local (Reg. (CE) nº 1069/2009). Estes podem ser diferenciados em três categorias: vísceras sem lesões que não necessitam de acompanhar as peças de caça para os estabelecimentos de preparação, estômagos e intestinos e carcaças ou as suas partes contaminadas (AFN *et al.*, 2010).

De forma a evitar o abandono dos subprodutos de caça selvagem, estes três tipos de subprodutos referidos anteriormente, podem ser encaminhados para uma UTS (unidade de tratamento de subprodutos) ou enterrados. No caso dos dois primeiros tipos de subprodutos podem, também, ser enviados para campos de alimentação de aves de rapina licenciados. Tanto para campos de alimentação como para uma UTS, os subprodutos devem ser acompanhados por uma guia modelo 376/DGV (AFN *et al.*, 2010). No caso de enterramento, este deve obedecer a diversas regras, tais como, o tamanho da vala, em que por exemplo, 2m<sup>2</sup> é o tamanho adequado a alojar 5 javalis ou 3 veados adultos e a altura das carcaças não deve exceder o meio metro de altura e coberta com cal viva; a nível do local a escolher, este deve evitar lençóis freáticos e a profundidade deve impedir o acesso de mamíferos aos subprodutos, devendo ter 1m de altura de terra a tapar a vala (AFN *et al.*, 2010; Vieira-Pinto, 2016).

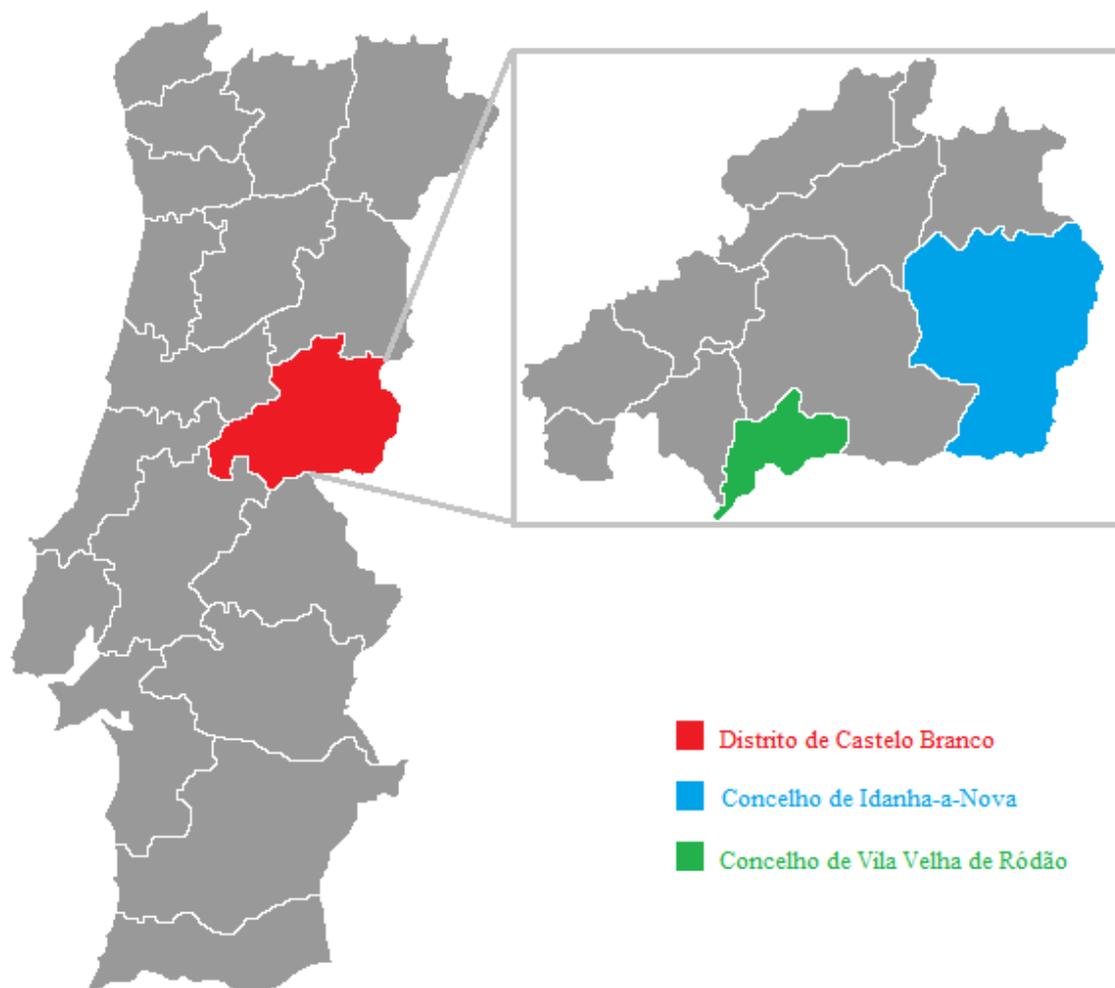
Desta feita, para evitar a contaminação do meio ambiente durante o transporte até ao local de enterramento, os subprodutos devem ser devidamente acondicionados (AFN *et al.*, 2010). Por outro lado, subprodutos como animais rejeitados por suspeita de doença não devem ser enviados para campos de alimentação de aves de rapina, devido ao risco de contaminação com agentes patogénicos, como *M. bovis*. Em Portugal, Cunha e colaboradores (2017), descreveram já o isolamento de micobactérias (incluindo *M. bovis*), numa ave necrófaga, um grifo (*Gyps fulvus*), na área de Portalegre. No entanto, não são conhecidas evidências que esta espécie possa ser considerada suscetível à infeção, mas deve-se ter este aspeto em conta na escolha da gestão de subprodutos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Nesta Dissertação de Mestrado foram estudadas 8 explorações pecuárias de bovinos em extensivo, com diferentes níveis de aproveitamento cinegético.

Destas, sete localizam-se no concelho de Idanha-a-Nova (dispersas pelas freguesias de Penha-Garcia, Rosmaninhal, Segura e Zebreira) e uma no concelho de Vila Velha de Ródão, ambos os concelhos pertencentes ao distrito de Castelo Branco (Figura 10).



**Figura 10.** Representação da área de estudo. Distrito de Castelo (a vermelho) representado no contexto de Portugal Continental e com uma ampliação onde se identifica o concelho de Idanha-a-Nova e de Vila Velha de Ródão (esquema de autor).

O concelho de Idanha-a-Nova, distrito de Castelo, localizado no sudeste da Região Centro de Portugal Continental. É um concelho pertencente à NUT III Beira Interior Sul, juntamente com os de Penamacor, Vila Velha de Ródão e Castelo Branco (PDI, 2012). É constituído por 13 freguesias (Aldeia de Santa Margarida, União de Idanha-a-Nova e Alcafozes, Ladoeiro, Medelim, União de Monfortinho e Salvaterra do Extremo, União de Monsanto e Idanha-a-Velha, Oledo, Penha Garcia, Proença-a-Velha, Rosmaninhal, São Miguel D'Acha, Toulões e União de Zebreira e Segura) e sua área total é de 1 416,0 km<sup>2</sup> (ANMP, 2017).

A norte é limitado pelo concelho de Penamacor, a noroeste pelo do Fundão, a oeste pelo de Castelo Branco a este pelo rio Erges e a sul pelo rio Tejo, sendo estes fronteira com a Província da Extremadura espanhola (Ribeiro *et al.*, 1997).

Conhecida como Egitânia, geograficamente, Idanha-a-Nova é um concelho de superfície aplanada onde se impõem diversas formas de relevo, tais como, o inselberg de Monsanto, as cristas quartzíticas de Penha Garcia, a escarpa de Idanha ou os encaixes dos rios Erges, Tejo, Aravil e Ponsul (*idem, ibidem*). Acrescem-se ainda as três principais albufeiras do concelho: Marechal Carmona, Penha Garcia e Toulica (PDI, 2012). Contíguo à linha do Tejo Internacional, encontra-se o Parque Natural do Tejo Internacional. Neste parque, dividido entre território português e espanhol, são muitas as espécies de mamíferos que nele habitam. São 44 espécies no total, sendo que aproximadamente 70% destas são espécies protegidas pela Convenção de Berna. Para este trabalho, destacam-se espécies como o javali e o veado (Cabral, 2009).

Por todas estas características geográficas descritas, o concelho de Idanha-a-Nova apresenta um clima descrito por Orlando Ribeiro (1988) como sendo um clima continental característico da Beira Baixa. Este caracteriza-se por um clima temperado mediterrânico (verão quente e seco e inverno frio e chuvoso), com amplitudes térmicas fortemente marcadas pela sazonalidade, que é característico de um clima continental (DSMIN, 2005).

Idanha-a-Nova, pela classificação climática de Köppen-Geiger, enquadra-se num clima Csa: "C" de clima temperado (sem queda regular de neve e a temperatura do mês mais frio do ano é entre -3 e 18°C), "s" de verão seco (precipitação do mês mais seco é inferior a um terço da do mês de inverno mais chuvoso e inferior a 40mm) e "a" de verão quente (temperatura média do mês mais quente é superior a 22°C) (PDI, 2012).

Este tipo de clima oferece vantagens tanto do ponto de vista agrícola devido à presença de sol e moderadas chuvas, como também, do ponto de vista lúdico, onde se enquadram atividades ao ar livre como a caça (DSMIN, 2005).

Os solos, no entanto, são pobres, o que leva à existência de terras baldias sujeitas a normas de gestão comunitária (a Herdade do Soido na freguesia da Zebreira e a Granja de Segura, são exemplos) e as suas pastagens propícias permitiram desenvolver uma ganadaria extensiva. Terras de grande tradição transumântica, Idanha-a-Nova além da ganadaria em extensivo, era também, conhecida pela prática, agora em desuso, da criação de porcos em montado (Ribeiro *et al.*, 1997).

Atualmente, a caça e a criação extensiva de bovinos de aptidão cárnica são atividades de extrema importância agronegocial para a região. No concelho existem 54 ZCT, 49 ZCA e 13 ZCM, totalizando 116 ZC inscritas no ICNF (2017). Ocupam cerca de 86% da área total do concelho, num conjunto de 120 000 has.

Como referido anteriormente, pertencente tal como Idanha-a-Nova, à NUT III Beira Interior Sul, encontra-se o concelho de Vila Velha de Ródão. Este concelho situa-se na margem direita do rio Tejo. É limitado a norte pelo concelho de Castelo Branco, a sul pelo de Nisa, a sudeste pelo de Mação e a ocidente pelo de Proença-a-Nova. A leste é delimitado, tal como o de Idanha-a-Nova, pela fronteira entre Portugal e Espanha (CMVVR, 2017).

É um concelho considerado como rural e um dos mais despovoados de Portugal, possuindo cerca de 4098 habitantes distribuídos por 328 Km<sup>2</sup>. Este território está dividido em quatro freguesias que abrangem quarenta e duas povoações: Fratel, Vila Velha de Ródão, Perais e Sarandas de Ródão (*idem, ibidem*).

Em termos geográficos e climáticos, Vila Velha de Ródão equipara-se em muito a Idanha-a-Nova, existindo cristas quartzíticas de grande valor geográfico e turístico denominadas de Portas de Almourão e Portas de Ródão (Gouveia, 2009). Estes monumentos naturais apresentam algumas passagens dos rios Ocreza, Ponsul e Tejo (CMVVR, 2017).

Atualmente em termos de flora, a área envolvente ao Monumento Natural das Portas de Ródão (escavado na crista quartzítica na Serra do Perdígão pelo rio Tejo criando um estrangulamento de 45m de largura), outrora revestida por oliveiras, é agora praticamente uma densa mancha de urzes, giestas, estevas e árvores como medronheiro. Esta densa flora natural, dá abrigo a uma avifauna rara, sendo frequentemente observada a cegonha negra (*Ciconia nigra*), o grifo (*Gyps fulvus*) e o bufo real (*Bubo bubo*)

(Gouveia, 2009). Em termos climáticos, o concelho de Vila Velha de Ródão é também, classificado, segundo a classificação de Köppen-Geiger, como um clima Csa; sendo a temperatura média no concelho de 17°C (no mês de Agosto considerado como o mais quente do ano é de 25,1°C) e a pluviosidade média anual é de 737mm (clima-data, 2017).

Vila Velha de Ródão, atualmente, é um concelho onde o turismo de natureza tem uma grande importância socioeconómica. Este turismo tem como ênfase, além dos monumentos naturais, como as Portas de Ródão e de Almourão e monumentos arqueológicos, como o Complexo de Arte Rupestre do Vale do Tejo, Estação Arqueológica de Famaco, Foz do Enxarrique e Vilas Ruivas, mas também, o turismo cinegético (CMVVR, 2017).

O aproveitamento cinegético nesta área é menor que em Idanha-a-Nova, mas o concelho de Vila Velha de Ródão conta, segundo o ICNF (2017), com 16 ZC, sendo 4 ZCT, 4 ZCA e 4 ZCM.

### **3.2. RECOLHA DE DADOS**

Todas as explorações em estudo localizam-se em freguesias abrangidas pelo *Edital nº1* - Tuberculose em caça maior; sendo assim, áreas onde está comprovada a presença do agente *M. bovis* em animais de caça maior e existe o perigo que este seja transmitido a espécies pecuárias (DGAV, 2011).

A aplicação do protocolo neste estudo envolveu a recolha de dados no campo obtidos por via de uma visita guiada à exploração, onde se efetuou um inquérito inicial ao proprietário e se obteve a localização e descrição dos fatores de risco.

Os dados relativos ao historial sanitário das explorações foi gentilmente cedido pela DGAV da Região Centro, com base na marca de exploração das explorações estudadas.

Quanto aos dados alusivos à aplicação do *Edital nº1* para as ZC (turísticas, associativas ou municipais) integradas na área das explorações em estudo foram fornecidos: pela DGAV da Região Centro, tendo em conta os relatórios entregues pelos médicos veterinários designados das montarias nas respetivas ZC; pelo gabinete médico veterinário da Câmara Municipal de Idanha-a-Nova; e num número reduzido de casos, recolhidas diretamente durante a participação em atos de exame inicial de caça maior durante a época venatória 2016/2017 no concelho de Idanha-a-Nova (Anexo II).

### 3.3. DESCRIÇÃO DO PROTOCOLO APLICADO NAS EXPLORAÇÕES EM ESTUDO

O protocolo de mitigação do risco de transmissão de Tuberculose entre bovinos e caça maior utilizado para a elaboração desta dissertação de mestrado foi desenvolvido em colaboração com investigadores do Instituto de Investigação em Recursos Cinegéticos (IREC), situado em Cidade Real, Espanha (Martínez-Guijosa *et al.*, 2016).

Este protocolo é dividido em quatro passos, descritos seguidamente:

#### 1. Estudo prévio específico de cada exploração:

- a) Cartografia (Figura 11): identificação da área onde a exploração em estudo se localiza, demarcação dos limites da mesma com o auxílio dos programas geradores de mapas *Google Earth*<sup>®</sup> e *BatchGeo*<sup>®</sup>.



**Figura 11.** Pré-mapeamento da exploração antes da visita (fotografia de autor).

- b) Obtenção de informação prévia relativas à prevalência de TB:

b1) Historial da bTB na exploração: informação e classificação sanitária dos cinco anos anteriores ao estudo (2012-2017) e a descrição do movimento de animais entre explorações;

b2) Historial da TB em caça maior na área envolvente da exploração pecuária em estudo: informações da aplicação do *Edital N<sup>o</sup>1* nas 5 épocas venatórias anteriores ao estudo (da época 2012/13 até 2016/17).

2. Inquérito ao proprietário da exploração (Figura 12):

- a) Identificação da exploração: nome, marca de exploração, freguesia pertencente, nome do médico veterinário responsável pela exploração e pelo saneamento anual, nº dos trabalhadores;
- b) Identificação do proprietário: nome, contacto, morada e profissão;
- c) Características gerais da exploração: área total, área ocupada por pastoreio, existência de outras espécies domésticas, nº de cabeças bovinas e de outras espécies, raças existentes, tipo de produção e divisão dos animais em lotes;
- d) Caracterização do manejo da exploração: tipo e hábitos de alimentação e abeberamento dos animais, forma de armazenamento do alimento e sua proveniência, rotatividade dos lotes de animais, existência de mortes durante o corrente ano e processo de retirada dessas carcaças da exploração;
- e) Informação relativa à fauna silvestre (co)habitante na exploração: identificar se a exploração em estudo é um coto de caça maior ou menor e a que tipo de ZC pertence, quantificação da presença de fauna silvestre (avistamento ou marcas - Figura 13) na área da exploração e existência ou não de suplementação alimentar para estas espécies (Figura 14).



**Figura 12.** Inquérito ao proprietário da exploração (fotografia de autor).



**Figura 13.** Marca de pata de cervídeo (fotografia de autor).



**Figura 14.** Cevadouro para alimentação suplementar para caça maior (fotografia de autor).

3. Estudo *in situ* da exploração (visita guiada à exploração):

- a) Mapeamento e delimitação das parcelas da exploração (Figura 15): identificação em mapa/tabelas e descrição do uso (pecuário, cinegético ou agrícola), manejo e tipo de pastagem. Detalhar qual o tipo de cerca presente, estado de conservação e altura (Anexo II);



**Figura 15.** Delimitação das parcelas da exploração com auxílio do proprietário (à esquerda) nos mapas previamente gerados (à direita) (fotografias de autor).

- b) Georreferenciação, fotografia e descrição dos fatores de risco encontrados na exploração [pontos de água (charcas, pântanos, rios e ribeiros), pontos de alimentação (comedouros e solo), bebedouros, estruturas de manejo e local de armazenamento do alimento], com recurso à aplicação android *CyberTracker*<sup>®</sup> (Figura 16).



**Figura 16.** Descrição, fotografia e georreferenciação pelo programa *CyberTracker*<sup>®</sup> (fotografias de autor).

#### 4. Elaboração de medidas de biossegurança para as explorações estudadas:

- a) Classificação dos fatores de risco georreferenciados durante a visita à exploração, segundo uma escala de risco de 1 a 5 (1 corresponde ao risco mínimo e o 5 ao risco máximo) e tabelas descritivas e qualificativas para os fatores: charcas e pântanos, bebedouros, rios e ribeiros, pontos de alimentação e armazenamento do alimento (ANEXO III);
- b) Descrição de medidas de biossegurança generalistas para a exploração, de forma a reduzir a probabilidade de existência de TB na exploração;
- c) Apresentação, segundo o tipo e o risco de cada fator de risco, de um conjunto de medidas de biossegurança específicas, de forma a mitigar o risco específico para a exploração de cada fator.

Aparte do protocolo aplicado de mitigação de risco de transmissão de TB na interface bovinos - caça maior, proporcionou-se a adaptação do mesmo para áreas de aptidão cinegética, onde não há pastoreio de bovinos, sendo assim, todo o risco avaliado é intra-espécies de caça maior. Por tal, foi seguido o mesmo protocolo para duas áreas cinegéticas localizadas igualmente nos concelhos de IN e VVR, adaptando a classificação de risco dos fatores encontrados em campo (Anexo IV) e descrito diferentes medidas de biossegurança igualmente adaptadas ao risco encontrado nos fatores nas áreas cinegéticas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a aplicação do protocolo de mitigação de risco de transmissão de tuberculose em bovinos e caça maior, observou-se uma manifesta disponibilidade dos produtores pecuários para que este estudo fosse realizado e contribuíssem, desta forma, para a redução da prevalência de TB na área de estudo. Com o decorrer do estudo, foi observado que a temática da TB animal e a existência de hospedeiros silvestres é do conhecimento dos proprietários pecuários, gestores cinegéticos, autoridades sanitárias e médicos veterinários que trabalham nos concelhos de Idanha-a-Nova (IN) e Vila Velha de Ródão (VVR), uma vez que estes concelhos estão sinalizados como sendo "hotspots" da doença em Portugal (Ribeiro, 2013).

É de realçar que ambos os concelhos pertencem à Beira Interior Sul (BIS), fazendo fronteira com a Extremadura espanhola, a qual é considerada segundo Cunha *et al.* (2011), como a área de maior risco de bTB em Portugal. Conhecem-se estudos que revelam uma prevalência de bTB média de 0,42% em bovinos nesta área (Ribeiro, 2013).

Ao longo das últimas décadas, o concelho de IN é conhecido por ser uma área na qual se verifica com grande ocorrência a partilha de alimento e água entre ungulados domésticos e silvestres, em particular o javali e o veado (Vieira-Pinto *et al.*, 2011). Quando analisadas as explorações bovinas de IN relativamente à prevalência de bTB nestas, depreende-se que o número de explorações infetadas é maior no centro e sul do concelho, visto ser nesta área que se encontra um grande número de explorações pecuárias com um efetivo persistentemente infetado ou reinfetado (Gonçalves, 2015). Estudos prévios nesta área, conhecida como área de grande potencial cinegético, indicam que os ungulados cinegéticos se encontram distribuídos por todo o concelho, mas o número de veados adensa-se nas freguesias a sul (Segura, Rosmaninhal e Penha Garcia), estando associada a sua distribuição espacial à do javali. De igual forma, ao estimar a prevalência de lesões compatíveis com TB nestas duas espécies, recorrendo ao método de diagnóstico por avaliação sanitária após atos de caça (Vicente *et al.*, 2006), também se verifica que a prevalência de TB nestes indivíduos é maior na zona sul de IN (Vieira-Pinto *et al.*, 2011; Gonçalves, 2015).

No presente estudo, oito das dez áreas estudadas encontram-se distribuídas por diferentes freguesias do concelho de Idanha-a-Nova, uma em Penha Garcia (freguesia a nordeste de IN), três em Zebreira, uma em Segura (estas duas freguesias do centro-sul

de IN) e duas explorações no Rosmaninhal (freguesia mais a sul de IN), constituindo uma amostra representativa das áreas de maior risco de transmissão de TB na interface bovinos - caça maior. Este estudo inclui igualmente, duas áreas de estudo pertencente ao concelho de VVR (concelho integrante da BIS), pertencente a um território de igual interesse epidemiológico para a TB animal tal como a de IN.

O objetivo principal deste trabalho prende-se com o conhecimento e caracterização dos fatores de risco presentes nas explorações pecuárias e formular propostas de medidas de biossegurança, de forma a mitigar o risco de transmissão de TB na interface bovinos - caça maior. No entanto, durante o trabalho de campo foi-me permitido realizar o mesmo procedimento em áreas apenas de aptidão cinegéticas. Assim, como extra ao trabalho definido inicialmente foram, também, avaliados os fatores presentes nestas áreas. Estes fatores e medidas propostas serão explicitados neste trabalho separadamente aos relacionados com a interface bovinos - caça maior em estudo.

#### **4.1. ATIVIDADE PECUÁRIA/CINEGÉTICA**

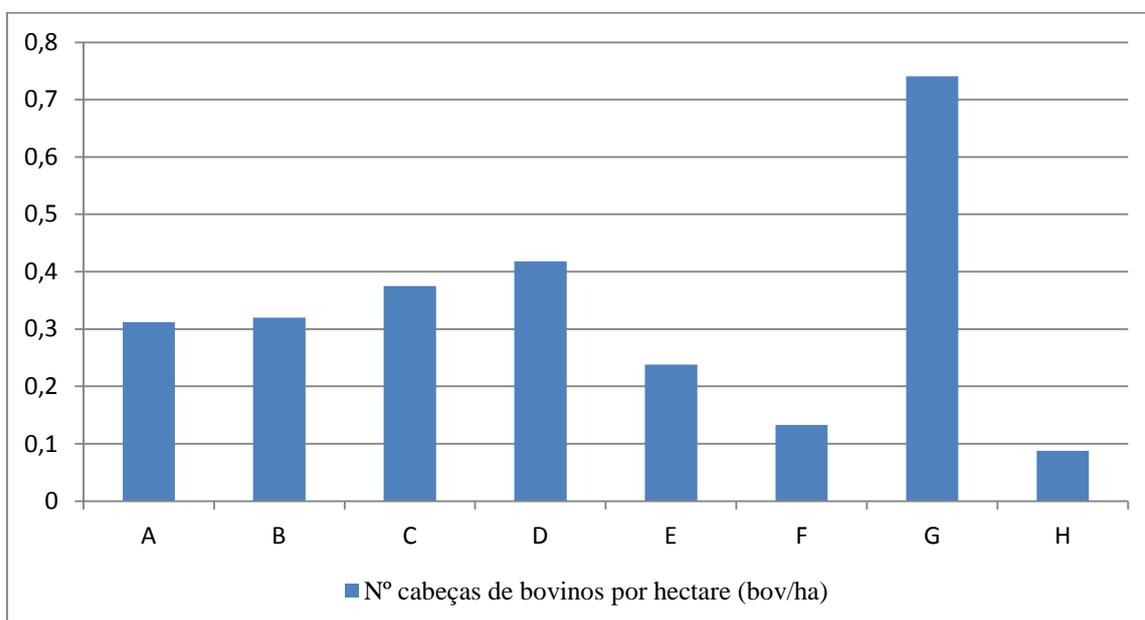
Nas explorações estudadas verificou-se como atividade principal a criação de bovinos em extensivo e cada uma destas com diferentes níveis de aproveitamento cinegético. Foram analisadas para este estudo um total de dez áreas, tendo sido classificadas em áreas de atividade, pecuárias (pertencentes ou não a zonas de caça) ou exclusivamente de uso cinegético (casos que serão analisados separadamente no decurso deste capítulo), como se pode verificar na Tabela 2.

**Tabela 2.** Identificação e dimensões (em ha) das diferentes áreas em estudo.

IDENTIFICAÇÃO DA ÁREAS			DIMENSÃO (em ha)
Área de atividade pecuária (bovinos em extensivo)			
Não pertencente a uma zona de caça		A	800
		B	250
Pertencente a uma zona de caça (ZCM; ZCA ou ZCT)	ZCA	C	120
	ZCA	D	110
	ZCT	E	1000
	ZCT	F	300
	ZCA	G	54
	ZCT	H	800
Área de atividade cinegética (apenas caça maior)			
	ZCT	I*	5200
	ZCT	J*	400

**Nota:** As áreas em estudo designadas por I e J são contíguas e pertencem ao mesmo proprietário que as áreas A e H, respetivamente.

Nas áreas de atividade pecuária (produção de bovinos em extensivo: A a H), foi possível reunir informação sobre o número de cabeças de bovinos por hectare (Figura 15).



**Figura 15.** Número de cabeças de bovinos por hectare nas áreas identificadas de A a H. (NOTA: apenas foram contabilizados os bovinos adultos existentes na exploração)

O número de cabeças de bovinos por hectare nas explorações pecuárias estudadas variou de 0,09 bov/ha na área H até 0,42 bov/ha na área D, sendo a média das áreas de 0,33 bov/ha.

Nas áreas C a H (pertencem simultaneamente a uma zona de caça) a informação relativa à densidade de caça maior era desconhecida, não tendo sido possível registá-la. A única exceção a esta impossibilidade registou-se na área I (pertencente a uma zona de caça turística) com exclusivo aproveitamento cinegético, onde anualmente são realizados censos de população de ungulados cinegéticos. Segundo dados do último censo (setembro de 2016), a densidade animal total de caça maior recenseada foi de 0,49 indivíduos/ha (Tabela 3), incluindo a contabilização de espécies como veados, gamos, muflões e javalis.

**Tabela 3.** Densidade de ungulados cinegéticos (indivíduos/ha) da área I (5200 ha).

Ungulados cinegéticos	Veados	Gamos	Muflões	Javalis	Total
Densidade (ind/ha)	0,17	0,15	0,08	0,09	0,49

Nas áreas de A a H, a produção de bovinos em regime extensivo tem como finalidade a venda de animais para abate ou a venda de reprodutores para outras explorações, sendo que as áreas C e D apenas se dedicam a este último tipo de venda. As raças de bovinos mais representativas nestas explorações são a Limousine, a Angus, a Charolesa, a Blonde D'Aquitaine e a Mirandesa.

#### **4.1.1. Coabitação com outras espécies domésticas**

Em Portugal, é comum que em áreas de pastoreio de bovinos, existam outras espécies domésticas, como ovinos, caprinos, cães, gatos e outras (Tabela 4). A coabitação com outras espécies pode ser considerado um fator de risco na transmissão de micobactérias para os bovinos, uma vez que, algumas destas espécies domésticas, especialmente os caprinos são hospedeiros de agentes da TB animal com grande afinidade para com os bovinos (Napp *et al.*, 2013). Deste modo, a coabitação com espécies domésticas é um dado a ter em conta, durante a realização da avaliação dos fatores de risco para a transmissão de TB e também, na sugestão de medidas de biossegurança propostas aos proprietários.

**Tabela 4.** Outras espécies domésticas existentes (assinaladas a azul) nas áreas A a H.

ESPÉCIES	A	B	C	D	E	F	G	H
Caprinos								
Ovinos								
Equinos								
Cão								
Gato								
Galinhas								
Pavões								
Patos								

No caso das explorações estudadas, pode-se afirmar que quanto à coabitação de outras espécies domésticas hospedeiras de agentes do CMT, e que, potencialmente podem ser fonte de infeção para os bovinos (espécie alvo principal de estudo), a área A é aquela em que o risco é maior, visto que há uma coabitação de caprinos (cerca de 300 cabeças) e bovinos na mesma área, tendo este facto já sido reportado em estudos prévios (Martínez-López *et al.*, 2013).

#### 4.1.2. Coabitação com a fauna silvestre

Uma das formas de identificar e avaliar indiretamente a presença de espécies de fauna silvestre nos territórios pecuários e, particularmente, de caça maior é questionar o proprietário/trabalhador das explorações, qual a frequência de avistamento de animais e marcas dos mesmos na sua exploração (Cowie *et al.*, 2014). Os resultados relativamente a este aspeto encontram-se resumidos na Tabela 5.

**Tabela 5.** Identificação da presença de fauna silvestre nas áreas A a H, por informação do inquirido ao produtor pecuário.

Espécie	Áreas de produção de bovinos								Total*
	Identificação da presença de fauna silvestre								
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Veado									8
Javali									8
Gamo									1
Muflão									1
Corço									1
Texugo									8
Raposa									8

\* O total corresponde ao nº de áreas de pastoreio de bovinos com observação da espécie em causa

LEGENDA: ● Diariamente ● Semanalmente ● Mensalmente ● Esporadicamente ● Nunca

Das oito áreas de produção de bovinos, incluindo as A e B, que apesar de não pertencerem a zonas de caça e os atos de caça no seu território não serem permitidos, constatou-se a presença de espécies de aptidão cinegética. Estas podem constituir um fator de risco na transmissão da TB, uma vez que a maioria das espécies silvestres pode ser hospedeiro de agentes do CMT.

Das oito áreas avaliadas neste parâmetro podemos inferir que na sua totalidade das áreas ocorre avistamento e marcas de veados, javalis, texugos e raposas. De acordo com Palmer (2013), destas quatro espécies, as com maior interesse no estudo da TB são o veado, o javali e o texugo. Pode-se concluir da Tabela 5, que as áreas E, F e H referem a presença diária de veados e javalis nos seus territórios. Já em relação ao texugo, este é identificado diariamente nas áreas A, F e H.

Por outro lado, as espécies cinegéticas como o gamo, muflão e corço são as que menor presença apresentam nestas oito áreas. Sendo que, o gamo é diariamente avistado na área A, o muflão esporadicamente na mesma área e o corço mensalmente na E. Os resultados encontrados, estão de acordo com os descritos em países como Espanha, que revelam que em áreas mediterrânicas, estas espécies são menos frequentes que o javali ou o veado (Aranaz *et al.*, 2004).

A presença de espécies como o gamo, 2º cervídeo mais comum na área mediterrânica é também, apresentada na literatura científica como potencial risco de transmissão de TB para os bovinos, mas o seu papel como disseminador e reservatório do agente não está ainda claramente descrito como no caso do javali e veado (PATUBES, 2017).

Numa perspetiva geral, de acordo com a Tabela 5, podemos concluir que a área de pastoreio de bovinos onde existe uma menor presença de fauna silvestre, é a G, uma vez que a raposa é avistada semanalmente e a presença caça maior, como veados e javalis é apenas esporádica.

Nas áreas estudadas dedicadas unicamente à atividade cinegética (I e J), foi igualmente, realizado o inquérito para a identificação de presença de fauna silvestre (Tabela 6).

**Tabela 6.** Quantificação da presença de espécies cinegéticas nas áreas I e J.

Espécie	Áreas cinegéticas		Total*
	Identificação da presença de fauna silvestre		
	I	J	
Veado			2
Javali			2
Gamo			1
Muflão			1
Corço			1
Texugo			2
Raposa			2

\* O total corresponde ao nº de áreas cinegéticas com observação da espécie em causa

LEGENDA: ● Diariamente ● Semanalmente ● Mensalmente ● Esporadicamente ● Nunca

Nestas duas áreas, a espécie mais presente foi o javali, seguido de espécies como o veado, o texugo e a raposa. Apenas na área I são avistados e caçados gamos e muflões. Estes dados estão de acordo com os descritos que afirmam que as espécies de caça maior com maior expressão em Portugal é o javali seguido do veado e gamo, e somente num número reduzido de casos se verifica a caça de muflões e corços (anónimo, 2017).

#### 4.1.3. Maneio alimentar

Todas as explorações estudadas pertencem a uma área de clima mediterrâneo na Península Ibérica, por isso a estratégia de manejo dos bovinos é semelhante em todas elas. Todas são confrontadas com diferenças na disponibilidade de recursos alimentares entre estações do ano, uma vez que o outono e inverno (outubro - abril) são épocas de maior mais humidade e frio, e a primavera e verão (maio - setembro) são épocas de clima mais seco e quente associado a uma maior escassez de alimento (Vicente *et al.*, 2006). De forma a contornar estes aspetos, em todas as áreas pecuárias (A a H), o manejo alimentar é semelhante e consiste no pastoreio dos bovinos alimentandos com pasto natural e suplementados com feno (produzido ou não na própria exploração) e com alimento composto. Esta prática de manejo é de capital importância em épocas ou anos de escassez de alimento natural. Considera-se que a principal desvantagem deste procedimento (suplementação alimentar com feno e alimento composto) é a consequente agregação de indivíduos, aumento da frequência e da probabilidade de contato direto e indireto entre bovinos e caça maior, e entre indivíduos da própria

espécie, favorecendo a transmissão de *M. bovis* (Vicente *et al.*, 2006; Barasona *et al.*, 2014).

Das oito áreas em estudo, duas delas mantêm durante todo o ano os bovinos em um único lote, cinco dividem a totalidade de bovinos em vários lotes consoante a disponibilidade de alimento nas parcelas da exploração e uma delas durante os meses mais frios junta os bovinos em um único lote e nos meses mais quentes em 3 lotes. A rotatividade dos lotes pelas parcelas das explorações está relacionada com a escassez e desgaste da pastagem natural e realiza-se num período compreendido de 2 a 4 semanas. Esta divisão do efetivo bovino em diversos lotes e uma rotatividade de pastagens evita a sobrepopulação num determinado local e a utilização massiva dos recursos presentes nas parcelas. Assim, há uma diminuição da probabilidade de contato e de transmissão de micobactérias entre bovinos e também, inter-espécies com a caça maior coabitante, nomeadamente no outono (final da época seca), onde se verifica um aumento do contato entre bovinos e caça maior (Cowie *et al.*, 2015a).

## **4.2. AVALIAÇÃO SANITÁRIA**

Para completar a avaliação de campo de uma exploração em relação ao risco de transmissão de TB é necessário saber qual o estado sanitário atual do efetivo bovino e o seu histórico relativo à doença.

Uma vez que um dos objetivos deste trabalho é mitigar o risco de transmissão na interface bovinos - caça maior, é de extrema importância conhecer igualmente a prevalência de lesões compatíveis com TB (LCT) nas espécies de caça maior da área envolvente. A Tabela 7, resume os resultados relativos à classificação sanitária das explorações de bovinos, disponibilizada pela DGAV; e a presença de LCT observadas no decurso da avaliação sanitária *in loco* das reses de caça maior nas zonas de caça associadas geograficamente às áreas pecuárias estudadas.

**Tabela 7.** Atual classificação sanitária das explorações de bovinos e prevalência de LCT em reses de caça maior e respetiva percentagem (%) de rejeição nas zonas de caça associadas geograficamente às áreas pecuárias nas últimas cinco épocas venatórias.

IDENTIFICAÇÃO DA ÁREA		BOVINOS		CAÇA MAIOR	
		Classificação sanitária atual relativa à TB bovina		Rejeições de reses de caça maior (%) (nº reses rejeitadas por LCT/ nº reses caçadas)	
Área de atividade pecuária (bovinos em extensivo)					
Não pertencente a uma zona de caça	A	T3		3,19 % (52/1628)	
	B	T2.1		18,76 % (118/629)	
Pertencente a uma zona de caça (ZCM; ZCA ou ZCT)	ZCA	C	T3		16,30 % (15/92)
	ZCA	D	T3		16,30 % (15/92)
	ZCT	E	T3		17,06 % (122/715)
	ZCT	F	T3		17,06 % (122/715)
	ZCA	G	T3		18,45 % (133/721)
	ZCT	H	T3		14,29 % (4/28)
Área de atividade cinegética					
	I			3,19 % (52/1628)	
	J			14,29 % (4/28)	

A classificação das explorações usada está de acordo com a descrita no Programa Nacional de Erradicação da Tuberculose Bovina (T3: efetivo indemne; T3S: efetivo com estatuto T3 em suspenso; T2: efetivo em saneamento; T2.1: efetivo infetado) (DGAV, 2016).

Em relação à informação respeitante à rejeição de reses de caça maior devido à presença de LCT, estes dados foram disponibilizados pelo MV municipal do concelho de Idanha-a-Nova (Dr. João Serejo) e pela DGAV. Estes dados depreendem-se com os resultados da avaliação *in loco* de reses de caça maior, incluindo veados, javalis, gamos e muflões, nas últimas cinco épocas venatórias (época 2012/13 até 2016/17).

No que se refere às áreas pecuárias e ao seu historial relativamente à deteção de TB no efetivo, a área B é a única que atualmente se apresenta em T2.1, ou seja, é considerado um efetivo infetado por TB. No saneamento anual realizado em 2015 nesta exploração, foram detetados animais positivos ao teste de IDTC e confirmados laboratorialmente. Esta descoberta colocou o efetivo bovino em T3S, sendo que o efetivo foi considerado T2.1, uma vez que foram detetados mais casos positivos em

todos os seguintes anos até ao presente. É sabido que todos os bovinos que entraram anteriormente nesta área foram submetidos ao despiste de TB (por meio de um teste de pré-movimentação obrigatório em Portugal) e classificados como negativos (Guta *et al.*, 2014). Todavia, a causa do aparecimento da TB no efetivo continua desconhecida, Pondera-se que esta infeção tenha tido origem na fauna silvestre, uma vez que, a área envolvente à exploração tem alta prevalência de LCT em espécies de caça maior. Esta hipótese confirma a necessidade de implementação de medidas de controlo de TB na exploração, visto que, a área B é uma das duas áreas que não estão integradas numa zona de caça, ou seja, não é permitido o ato de caça nos seus terrenos. Contudo, todo o seu perímetro exterior são terrenos pertencentes a uma zona de caça associativa (ZCA) e são avistados semanalmente javalis e veados (como se pode verificar na Tabela 5), podendo, assim, constituir esta situação um risco para a área em questão. A passagem de caça maior para o interior da exploração (uma vez que, javalis e veados têm capacidade de ultrapassar grandes barreiras e percorrer grandes distâncias) e o uso compartilhado do mesmo espaço e fontes de água e alimento que o efetivo bovino pode ser, neste caso, a causa da transmissão do agente do CMT, tanto por contato direto como indireto. Por aconselhamento do seu médico veterinário, nesta área B, desde 2015, que se tem vindo a implementar algumas medidas de biossegurança e reforçado o controlo da TB no seu efetivo na tentativa de tornar a sua exploração indemne novamente.

As restantes áreas analisadas neste trabalho, estão atualmente classificadas como explorações T3, isto é, consideram-se indemnes de TB. No entanto, a área F, recentemente esteve igualmente, em T3S, pois no saneamento anual de 2012 foram encontrados 3 animais positivos ao teste de IDTC e laboratorialmente confirmados. Neste caso, o proprietário optou por abater todo o efetivo e estabelecer um vazio sanitário de 2 anos. Foram reintroduzidos novamente animais na área F somente em 2014. O proprietário identifica a presença caça maior infetada por TB como a causa mais provável do aparecimento da doença na sua exploração, visto que, é uma exploração isolada e com grande presença de espécies de caça maior (veado e javali são avistados diariamente como se pode verificar na Tabela 5). Segundo os dados apurados por este estudo, nos territórios envolventes à área F, a percentagem de rejeições de reses por LCT foi de 17,06%, reforçando assim, que esta seja a causa mais provável da infeção dos 3 animais.

O cálculo da prevalência relativa de TB em caça maior é uma extrapolação indireta dos dados de rejeições de reses de caça maior por evidência de lesões compatíveis com tuberculose (LCT) na avaliação *in loco*, sem ter em conta uma posterior confirmação laboratorial. Conforme já foi referido anteriormente, estes dados foram facultados pelo MV municipal de Idanha-a-Nova (Dr. João Serejo) e complementadas por dados fornecidos pela DGAV.

Apesar da obrigatoriedade de aplicação do Edital N°1 de caça maior nos concelhos onde se localizam as áreas de A a I, nem sempre os dados são relatados à DGAV por parte dos MV designado, o que pressupõe que as informações facultadas por esta instituição não sejam exatas para a área em estudo; por conseguinte, o número de animais caçados e respetivas rejeições pode estar subestimado em relação ao que se verifica em campo. Analisando a Tabela 7, foi possível verificar que a zona com maior taxa de rejeição de caça maior (javalis, veados, gamos e muflões) por LCT é a zona envolvente à área pecuária B, que apresenta uma taxa de rejeição de 18,76%. Assim, este resultado está de acordo com a hipótese avançada anteriormente, uma vez que, existe uma grande probabilidade da causa do efetivo bovino da área pecuária B estar persistentemente infetado, ser o facto de existir uma prevalência de LCT de aproximadamente 19% em espécies de caça na zona envolvente. Para que esta hipótese seja verificada como correta dever-se-ia recorrer a estudos laboratoriais, como é caso da genotipagem, para concluir se as estirpes das micobactérias causadoras de infeção nos bovinos e em caça maior são iguais e assim, extrapolar uma possível transmissão inter-espécies (Duarte *et al.*, 2007).

As áreas A e I, como referido anteriormente, são contíguas, mas com atividades económicas diferentes são as que apresentam uma taxa de rejeição por LCT em caça maior inferior, 3,19%, levando a concluir que esta será a área em estudo com menor risco de transmissão intra e inter-espécies. Esta exploração situa-se no norte do concelho de IN, o que confirma os dados publicados anteriormente (Gonçalves, 2015). Nestes, é referido que a área do concelho de IN com menor prevalência de TB animal em caça maior é a zona norte em contraste ao verificado na zona centro e sul, como é o caso da área B.

### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS LIMITES E PARCELAMENTO DAS EXPLORAÇÕES EM ESTUDO

Durante a avaliação *in situ* das áreas estudadas (10), com auxílio dos proprietários e gestores das mesmas, realizou-se um mapeamento e caracterização das parcelas exploradas em cada área e qual a utilização das mesmas.

Mais do que a rotatividade destas parcelas, para o protocolo de mitigação de risco aplicado neste estudo é relevante, observar qual a divisão das parcelas, forma de isolamento e avaliar o nível de proteção. Assim, deve-se verificar o tipo e estado de conservação dos cercados das parcelas das áreas em estudo. A Tabela 8 resume os resultados relativos ao parcelamento e estado de conservação do tipo de cercado existente nas áreas estudadas.

**Tabela 8.** Resumo do parcelamento e forma de isolamento das áreas A a J.

Áreas	Nº parcelas	Área média das parcelas (em ha)	Tipo de cercado	Altura (em m)	Estado de conservação do cercado
A	5	160	Pecuário	< 1,5	Bom
B	8	31,25	Pecuário	< 1,5	Bom
C	4	30	Pecuário	< 1,5	Necessidade de reparações
D	3	36,7	Pecuário	< 1,5	Bom
E	15	66,7	Pecuário	< 1,5	Bom
F	7	42,9	Pecuário	< 1,5	Bom
G	8	6,75	Pecuário	1,5 - 2	Necessidade de reparações
H	2	400	Pecuário	< 1,5	Bom
I	5	1040	Cinegético	> 2,5	Muito bom
J	4	300	Pecuário	1,5 - 2	Bom

**NOTA:** Cercado tipo cinegético: malha fina e com altura superior a 2,2m e 0,5m subterrada; Cercado tipo pecuário: malha larga ou arame farpado e com aproximadamente 1,5m de altura

Em geral, verifica-se um bom estado de conservação dos cercados existentes, mas tal, como o descrito em estudos realizados em outros países (Barasona *et al.*, 2013), é raro que nas áreas de pastoreio de bovinos se utilize cercados do tipo cinegético para dividir as parcelas, verificando-se a presença na maioria das vezes, de cercados tipo pecuário (Figura 16).



**Figura 16.** Tipo de cercado utilizado para o parcelamento das explorações: à esquerda, cercado tipo cinegético (altura superior a 2,2m) e à direita, cercado tipo pecuário (1,5m de altura). (fotografias de autor).

Nas explorações correspondentes às áreas C, D e G é importante referir que as parcelas da exploração não são todas adjacentes, mas sim, dispersas pela freguesia onde se localiza. Por conseguinte, o risco de contato entre bovinos e ungulados silvestre difere de parcela para parcela dependendo da localização exata das mesmas.

Nas explorações estudadas somente a área I é cercada na sua totalidade por cercado do tipo cinegético, na medida que esta é uma área apenas de aptidão cinegética. É assim, do interesse do gestor manter uma grande densidade populacional de caça maior confinada no mesmo território. A área A, apesar do seu parcelamento ser garantido por cercados de tipo pecuário, o seu limite exterior é constituído por cercado de tipo cinegético, uma vez que é contígua à área I.

A não existência de cercados tipo cinegético ou outro de altura superior a 2,2m de altura, constitui um risco a ter em conta num plano de biossegurança contra a TB. As espécies de caça maior, tais como os javalis e os veados, são capazes de destruir e ultrapassar obstáculos com bastante facilidade acedendo, assim, aos terrenos de pastoreio dos bovinos, podendo haver contacto direto ou indireto destes com bovinos. É

importante, tornar os cercados exteriores das explorações impermeáveis à caça maior, sendo isto, conseguido com a construção de cercados do tipo cinegético (Barasona *et al.*, 2013; Martínez-López *et al.*, 2013).

#### **4.4. IDENTIFICAÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DE FATORES DE RISCO**

A caracterização dos fatores de risco para a ocorrência de TB identificados nos terrenos das explorações pecuárias e cinegéticas é crucial para um eficiente controlo e uso de medidas para a sua erradicação e prevenção (Rodríguez-Prieto *et al.*, 2012). Um fator de risco é descrito como um fenómeno de natureza física, química, orgânica, psicológica ou social, que pela variabilidade da sua presença ou ausência está relacionada com a doença investigada ou pode ser causa do seu aparecimento num indivíduo ou população (Pereira, 2004). No caso desta dissertação foram analisados fatores de risco de natureza física relacionados com a transmissão de TB em bovinos e caça maior.

Na visita guiada às 8 áreas pecuárias estudadas, procedeu-se a um levantamento e caracterização dos fatores de risco previamente definido (Anexo III), considerando uma escala cromática de risco de 1 a 5 (1- risco mínimo e 5- risco máximo). A Tabela 9 resume os fatores de risco encontrados nas áreas de A a H, os quais se encontram distribuídos em 4 categorias diferentes: pontos de abeberamento, pontos de alimentação, armazenamento de alimento e outros.

**Tabela 9.** Total de fatores de risco avaliados nas áreas A a H e respectiva classificação (continua).

FATORES DE RISCO AVALIADOS		RISCO	ÁREAS EM ESTUDO							TOTAL	
			A	B	C	D	E	F	G		H
Pontos de abeberamento	Charcas	0									-
		1									-
		2	1		1	1			3		6
		3	3		4		2		3	1	13
		4	6	1	1	1	15	5	4	1	34
		5	2	3	2	1	1	1	2		12
	Rios e ribeiros	0									-
		1									-
		2	3			1	1				5
		3				1				1	2
		4	2					4			6
		5							1		1
	Bebedouros	0				1			4		5
		1									-
		2			1				1		2
		3		1	2	2			1		6
		4									-
		5								2	2
Pontos de alimentação	Comedouros	0			1						1
		1									-
		2			1						1
		3	1		2						3
		4	2	2	1		7	7	4	2	25
		5									-
	Alimento no solo	0									-
		1									-
		2							1		1
		3									-
		4		1			1	1			3
		5								1	1
	Sementeiras	0									-
		1									-
		2									-
		3									-
		4								1	1
		5					1				1

**Tabela 9.** Total de fatores de risco avaliados nas áreas A a H e respetiva classificação (continuação).

	Cevadouros para caça	0									-
		1									-
		2									-
		3									-
		4									-
		5								3	3
Armazenamento de alimento	0	1	1	1	1	1	1	1	3	10	
	1		1							1	
	2							1		1	
	3									-	
	4									-	
	5									-	
Outros	Infraestruturas de apoio	0	1		1		1		4	7	
		1								-	
		2								-	
		3								-	
		4								-	
		5								-	
Total		22	10	18	9	30	19	30	15	153	

De acordo com a Tabela 9, o número de fatores de risco encontrado fez um total de 153 e as áreas E e G são as que apresentaram o número de fatores de risco (cada uma com 30 fatores), seguidas da área A com 22.

Em análise aos dados apresentados na Tabela 9, pode inferir-se que os fatores de risco relacionados com o abeberamento (charcas, rios, ribeiros e bebedouros) é o conjunto de fatores em maior número neste estudo, tendo sido registados um total de 94 (61,4%). Seguidamente encontram-se os pontos de alimentação (comedouros, alimento no solo, sementeiras e cevadouros para caça maior) num total de 40 fatores (26,2%). Em menor número apresentam-se fatores, tais como: 12 locais de armazenamento de alimento (7,8%) e 7 fatores (4,6%) considerados como outros (como por exemplo, infraestruturas de apoio).

Segundo a classificação de risco (descrita no Anexo III), os 153 fatores de risco inter-espécies (interface bovinos - caça maior), apresentam-se distribuídos desta forma: 1 de risco 1 (0,7%), 16 de risco 2 (10,4%), 24 de risco 3 (15,7%), 69 de risco 4 (45,1%) e 20 de risco 5 (13,1%). A grande percentagem de fatores de risco elevado (níveis 4 e 5)

prende-se com a existência de um elevado número de fatores relacionados com o abeberamento classificados com risco elevado, principalmente charcas. Pode-se verificar que dos 89 fatores de risco 4 e 5, 46 são charcas.

Extra ao inquérito pré-definido inicialmente, como referido anteriormente, foram analisados igualmente os fatores de risco nas 2 áreas de aptidão cinegética (identificadas como áreas I e J). Nestas foram avaliados 42 fatores (Tabela 10) e classificados quanto ao risco apresentado com base no Anexo IV.

**Tabela 10.** Resumo dos fatores de risco avaliados nas áreas cinegéticas (I e J) (continua).

FATORES DE RISCO AVALIADOS		RISCO	ÁREAS CINEGÉTICAS		TOTAL
			I	J	
Pontos de abeberamento	Charcas	0			-
		1		2	2
		2	1	1	2
		3	4	1	5
		4	3	1	4
		5	1		1
	Rios e ribeiros	0			-
		1	2		2
		2	2		2
		3			-
		4		1	1
		5			-
Pontos de alimentação	Sementeiras	0			-
		1			-
		2			-
		3			-
		4		5	5
		5			-
	Cevadouros para caça	0			-
		1			-
		2			-
		3			-
		4			-
		5		5	5

**Tabela 10.** Resumo dos fatores de risco avaliados nas áreas cinegéticas (I e J) (continuação).

Outros	Infraestruturas de apoio	0			-
		1	1		1
		2			-
		3			-
		4			-
		5			-
	Áreas pantanosas	0			-
		1			-
		2			-
		3			-
		4	2		2
5			10	10	
Total		16	26	42	

No conjunto dos 42 fatores identificados, 19 são pontos de abeberamento (charcas, rios e ribeiros, não existindo bebedouros) (45,2%), 10 são pontos de alimentação para caça maior (sementeiras e cevadouros) (23,8%) e 13 são considerados como outros fatores (31%), tais como infraestruturas de apoio e áreas pantanosas (estas últimas, são fatores não observados durante as visitas às áreas pecuárias).

Quanto ao nível de risco destes fatores categorizado de acordo com o definido no Anexo IV, estes foram distribuídos pelos seguintes níveis: 5 fatores de nível 1 (11,9%), 4 de risco 2 (9,5%), 5 de risco 3 (11,9%), 12 de risco 4 (28,6%) e 16 de risco máximo (nível 5) (38,1%). Todos os fatores de risco encontrados nestas áreas (I e J) constituem um risco para a transmissão de *M. bovis* entre as espécies de caça maior que coabitam nestas áreas.

De forma a poder discutir os resultados por categoria, os fatores de risco avaliados - pontos de alimentação, pontos de abeberamento, armazenamento de alimento e outros - serão seguidamente apresentados em subpontos separadamente nesta dissertação.

#### 4.4.1. Pontos de abeberamento

Neste trabalho, os fatores de risco considerados como pontos de abeberamento foram as charcas, os rios e ribeiros e os bebedouros (Tabela 11).

**Tabela 11.** Pontos de abeberamento das áreas A a H, e respetivo nível de risco.

FATORES DE RISCO AVALIADOS		RISCO	ÁREAS							TOTAL	
			A	B	C	D	E	F	G		H
Pontos de abeberamento	Charcas	0									-
		1									-
		2	1		1	1			3		6
		3	3		4		2		3	1	13
		4	6	1	1	1	15	5	4	1	34
		5	2	3	2	1	1	1	2		12
	Rios e ribeiros	0									-
		1									-
		2	3			1	1				5
		3				1				1	2
		4	2					4			6
		5							1		1
	Bebedouros	0				1			4		5
		1									-
		2			1				1		2
		3		1	2	2			1		6
		4									-
		5								2	2
Total			17	5	11	8	19	10	19	5	94

Na Tabela 11, são discriminados os fatores encontrados em cada uma das 8 áreas pecuárias em estudo, concluindo-se que 94 dos 153 fatores de risco inter-espécies estudados (61,4%) são categorizados como pontos de abeberamento. Os pontos de abeberamento são considerados os fatores numa exploração com maior risco de contaminação cruzada entre ungulados silvestres e domésticos, particularmente no verão. Por conseguinte, para uma avaliação eficaz de uma exploração é fundamental identificar os hábitos de manejo e a disponibilidade de água ao efetivo bovino (Barasona *et al.*, 2013).

A tipologia dos terrenos da BIS permite a utilização dos recursos naturais existentes naturalmente como fonte de abeberamento para os animais. Deste modo, os

agricultores incluem a utilização de charcas, ribeiros e rios no quotidiano da sua exploração, dispensando a utilização de bebedouros.

Diversos estudos revelam que a sobrevivência das micobactérias no meio ambiente é condicionada, essencialmente, pela temperatura, exposição à luz solar, humidade e quantidade de matéria orgânica no substrato (Humblet *et al.*, 2009), sendo temperaturas baixas, áreas húmidas e escuras as condições de sobrevivência ideais (*idem, ibidem*), podendo sobreviver até 88 dias em solos terrosos (Santos *et al.*, 2015). Os pontos de abeberamento como as charcas (pontos de abeberamento mais encontrados nas explorações) e ribeiros, são aqueles que apresentam maior risco de transmissão de agentes do MCT (Cowie *et al.*, 2015a). Uma vez que, as condições ideais de sobrevivência das micobactérias são, muitas vezes, encontradas nas margens destes pontos e especialmente, se estes se encontrarem em territórios sombrios ou de floresta (Barasona *et al.*, 2017). Desta forma, estes pontos de agregação aquando da presença de animais infetados podem constituir um local vulnerável e de disseminação indireta dos agentes da TB. Em Espanha foram publicados estudos realizados pelo Instituto de Investigação em Recursos Cinegéticos (IREC), que detetaram que mais de 50% das áreas húmidas ao redor das charcas foram positivas para a presença de *M. bovis* e 10% em amostras de água (Barasona *et al.*, 2017). Em Portugal, Santos *et al.* (2015), detetaram a presença de bactérias do MCT em 22% das amostras de terra analisadas e 5% nas de água.

Das oito áreas pecuárias (A a H) no presente estudo, três destas (37,5%) não possuem nenhum tipo de bebedouro na sua propriedade, sendo o abeberamento dos animais assegurado unicamente por fontes de água natural presentes nos seus terrenos. Os restantes 62,5%, correspondentes a cinco áreas, possuem bebedouros ou outra estratégia para disponibilizar água aos animais; sendo que, estes bebedouros, são colocados usualmente em parcelas onde o acesso a fontes de água natural não existe ou a água escasseia durante a época seca. Os bebedouros, usualmente, não têm altura suficiente para prevenir que espécies, como os cervídeos, não lhe acedam e os usem como fonte de água.

Apenas a área B, põe em prática medidas de biossegurança relacionadas ao aproveitamento de charcas nos seus terrenos. O proprietário impede o uso de determinadas charcas (mediante a instalação de um cercado ao seu redor) nas épocas do ano mais críticas, assegurando o abeberamento dos bovinos por meio de um depósito de água móvel que transporta para as parcelas em causa.

Em relação à classificação de risco dos 94 pontos de abeberamento avaliados (Figura 17) nas áreas pecuárias estudadas infere-se que os níveis de risco mais elevados (nível 4 e 5) são aqueles que albergam um maior número de fatores. Assim, a distribuição dos pontos de abeberamento por níveis de risco é: 15 de risco 5 (máximo) (16%), 40 de risco 4 (42,6%), 21 de risco 3 (médio) (22,3%), 13 de risco 2 (13,8%) e 5 fatores (5,3%) foram classificados como não tendo risco.

Em síntese, as charcas são os fatores em maior número no âmbito dos pontos de abeberamento e estas, são igualmente, as que apresentam maior número de fatores classificados com níveis de risco 4 e 5, uma vez que, das 65 charcas 46 enquadram-se nestes níveis (70,8%). Este resultado confirma os dados da comunidade científica que afirma que as charcas são os pontos de maior risco na transmissão de *M. bovis* na interface bovinos - caça maior. A área E é aquela que apresenta o maior número de charcas (18), sendo 16 destas de altos níveis de risco, considerando-se, por conseguinte, esta área como a de maior risco quanto ao abeberamento.

Uma forma alternativa de classificar o risco de uma determinada exploração pecuária em relação aos locais de abeberamento, é saber qual o número de pontos de água disponíveis nas explorações por hectare. Segundo Barasona *et al.* (2015), o risco é maior para aquelas que apresentam um número menor de pontos de água por hectare, visto que aumenta a probabilidade de tanto os ungulados domésticos como silvestres visitarem os mesmos locais para beberem água e no mesmo momento.

A Tabela 12 apresenta simultaneamente os dados relativos ao número de cabeças de bovinos por hectare e o nº de pontos de água em cada uma das áreas de interface bovinos - caça maior estudadas neste trabalho.

**Tabela 12.** Resultados relativos ao nº de cabeças de bovinos por hectare das áreas estudadas e respetivo nº de pontos de água.

Áreas	A	B	C	D	E	F	G	H
Densidade animal (bov/ha)	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	0,1	0,7	0,1
Nº de pontos de abeberamento	17	5	11	8	19	10	19	5

Desta feita, analisando a Tabela 12 conclui-se que apenas se pode fazer comparação entre áreas com nº aproximado de bovinos por hectare, como por exemplo, entre a área C e a D que têm 0,4 bov/ha, podendo o risco ser maior na D, uma vez que

tem 8 pontos de água contrariamente aos 11 da C. No caso das áreas F e H (ambas com 0,1 bov/ha), verifica-se que a que pode apresentar um maior risco é a H, que tem apenas 5 pontos de água; nas áreas A e B (0,3 bov/ha), a B tem 5 pontos de água contrariamente aos 17 da A.

Aparte do trabalho relacionado com a interface bovinos - caça maior, dos 42 fatores avaliados nas áreas I e J, 19 são pontos de abeberamento (45,2%). Nestas áreas, onde habita apenas caça maior, não existem bebedouros ou fontes de água artificiais, sendo o abeberamento destas espécies assegurado unicamente por charcas, rios e ribeiros. Este facto, pode constituir um problema em épocas de escassez, visto que, a caça maior quando necessita de procurar água em outros locais, vai ocupar locais de abeberamento de bovinos e outras espécies domésticas. Segundo Katale *et al.* (2013), 88,9% do contacto entre bovinos e ungulados silvestres acontece nestes locais.

A Tabela 13 resume os pontos de abeberamento nas áreas de aptidão cinegética, discriminando-os por nível de risco.

**Tabela 13.** Pontos de abeberamento das áreas I e J e respetivo nível de risco.

FATORES DE RISCO AVALIADOS		RISCO	ÁREAS		TOTAL
			I	J	
Pontos de abeberamento	Charcas	0			-
		1		2	2
		2	1	1	2
		3	4	1	5
		4	3	1	4
		5	1		1
	Rios e ribeiros	0			-
		1	2		2
		2	2		2
		3			-
		4		1	1
		5			-
Total			13	6	19

Nesta medida, os 19 fatores de risco foram classificados em: 4 de nível 1 (21,1%), 4 de nível 2 (21,1%), 5 de nível 3 (26,3%), 5 de nível 4 (26,3%) e 1 de nível 5 (5,2%).



**Figura 17.** Exemplos (A - D) de pontos de abeberamento encontrados nas explorações e classificados segundo o seu risco de transmissão de TB (fotografias do autor).

**A** - Charca de risco nível 2: aproximadamente 50m de diâmetro; sem grande barrizal e sem rastro de animais ao redor; Situa-se numa área de avistamento esporádico de ungulados silvestres.

**B** - Charca de risco nível 5: entre 10 e 20m de diâmetro; barrizal alto com aproximadamente 1m, inclinado e com lama; evidências de uso por ungulados silvestres.

**C** - Ribeiro de risco nível 2: largura de aproximadamente 3m; não seca no verão; margens com pedras e sem lama.

**D** - Bebedouro de risco nível 3: bebedouros de lata com 0,7m de altura alimentados por depósito; sem zona húmida ou fugas de água ao redor; sem evidência de presença de ungulados silvestres.

#### 4.4.2. Pontos de alimentação

De acordo com a literatura científica, em 2º lugar após os pontos de água, os pontos de alimentação são os fatores com risco mais evidente nas explorações pecuárias (Ferré, 2010; Muñoz-Mendoza *et al.*, 2013; Nugent *et al.*, 2015). No presente trabalho, foram considerados pontos de alimentação de risco, os seguintes fatores: comedouros, locais de alimento no solo e suplementação alimentar como sementeiras e cevadouros destinados à caça maior. A Tabela 14 resume os 40 pontos de alimentação de risco (26,2%) encontrados nas oito áreas pecuárias estudadas.

**Tabela 14.** Pontos de alimentação das áreas A a J e respetivo nível de risco.

FATORES DE RISCO AVALIADOS		RISCO	ÁREAS								TOTAL
			A	B	C	D	E	F	G	H	
Pontos de alimentação	Comedouros	0			1						1
		1									-
		2			1						1
		3	1		2						3
		4	2	2	1		7	7	4	2	25
		5									-
	Alimento no solo	0									-
		1									-
		2							1		1
		3									-
		4		1			1	1			3
		5								1	1
	Sementeiras	0									-
		1									-
		2									-
		3									-
		4								1	1
		5					1				1
	Cevadouros para caça	0									-
		1									-
		2									-
		3									-
		4									-
		5								3	3
	Total			3	3	5	-	9	8	5	7

O manejo alimentar dos efetivos bovinos em estudo é realizado com base em pastagens naturais e suplementação com alimento processado como feno e alimento composto; estes últimos alimentos são disponibilizados aos bovinos adultos de forma diferente consoante a existência ou não de comedouros na exploração. Das 8 áreas pecuárias, duas delas (25%) apenas distribuem o alimento em comedouros, não utilizando o solo; contrariamente a outras quatro (50% das áreas), em que não existem comedouros e assim, o alimento é disponibilizado unicamente no solo; as restantes duas áreas em estudo (25%) utilizam tanto o solo como comedouros para o alimento, consoante a parcela em que o efetivo pastoreia naquele momento.

A distribuição de alimento aos bovinos em todas as áreas pecuárias é realizada uma vez ou duas por dia, consoante a necessidade de suplementar os animais com feno e alimento processado por escassez de pastagens naturais. Usualmente é disponibilizado o alimento de manhã e quando há necessidade de o fazer uma segunda vez, este é disponibilizado ao entardecer. A altura do dia em que se realiza esta distribuição alimentar suplementar revela-se importante, na perspetiva que, a atividade diária das espécies de caça de interesse neste estudo é mais noturna que diurna (Barasona *et al.*, 2013). Pressupondo assim, que o alimento distribuído aos bovinos ao entardecer é uma fonte de atração para estas espécies e pode ser um fator de risco em explorações onde coabitem de bovinos e caça maior, sobretudo se em grande densidade.

Quando se trata de manejo alimentar dos bovinos não adultos, 50% das áreas pecuárias possuem comedouros seletivos para bezerros, onde estes têm acesso a alimento destinado exclusivamente a eles. Estes comedouros possuem grades e um acesso ao alimento impossível de ultrapassar por bovinos adultos, todavia, o mesmo não se verifica com as espécies de caça maior que as ultrapassam facilmente (Figura 18).



**Figura 18.** Comedouro seletivo para bezerros (fotografia do autor).

Esta informação relativa ao manejo alimentar das explorações é de extrema importância para a avaliação dos fatores de risco envolvidos na transmissão da TB animal inter-espécies. Na medida que, está descrito na literatura científica, que em épocas de escassez de alimento, há uma utilização mais assídua dos pontos de alimentação como comedouros tanto por bovinos como por caça maior coabitante (Vicente *et al.*, 2007). Com uma maior utilização, aumenta igualmente a probabilidade de contacto direto e indireto entre espécies. A sobrevivência de *M. bovis* no solo e no alimento permite a infeção de um individuo saudável. Um estudo elaborado por Santos *et al.* (2015) revela uma prevalência de *M. bovis* no solo ao redor de comedouros em 18% das amostras estudadas.

Relacionando a alimentação dos bovinos com a coabitação de fauna silvestre, é necessário saber se nas áreas de A a H existe suplementação alimentar para caça maior, na medida que, uma das principais práticas de manejo da caça maior é a oferta de alimento de forma artificial para manter uma densidade animal suficiente para assegurar a existência de exemplares durante a época venatória.

As áreas A e B, que os seus territórios não pertencem a uma zona de caça, a suplementação alimentar para caça maior não se verifica, uma vez que, não se verifica a necessidade de manter uma população cinegética. Nas áreas onde existe simultaneidade entre pastoreio de bovinos e atos de caça, existe suplementação alimentar destinada à caça maior nas áreas E, F e H; estas três áreas utilizam sementeiras (de plantações diferentes como sorgo, milho e aveia), mas apenas a área H tem no seu território, 3 comedouros para caça maior, especialmente para javalis.

Quando avaliamos o panorama encontrado nas áreas estudadas (Figura 19) relativamente aos pontos de alimentação encontra-se um grande equilíbrio entre elas. A área D não apresenta nenhum ponto de alimentação classificável, enquanto todas as outras apresentam uma média de 5 pontos de alimentação por área.

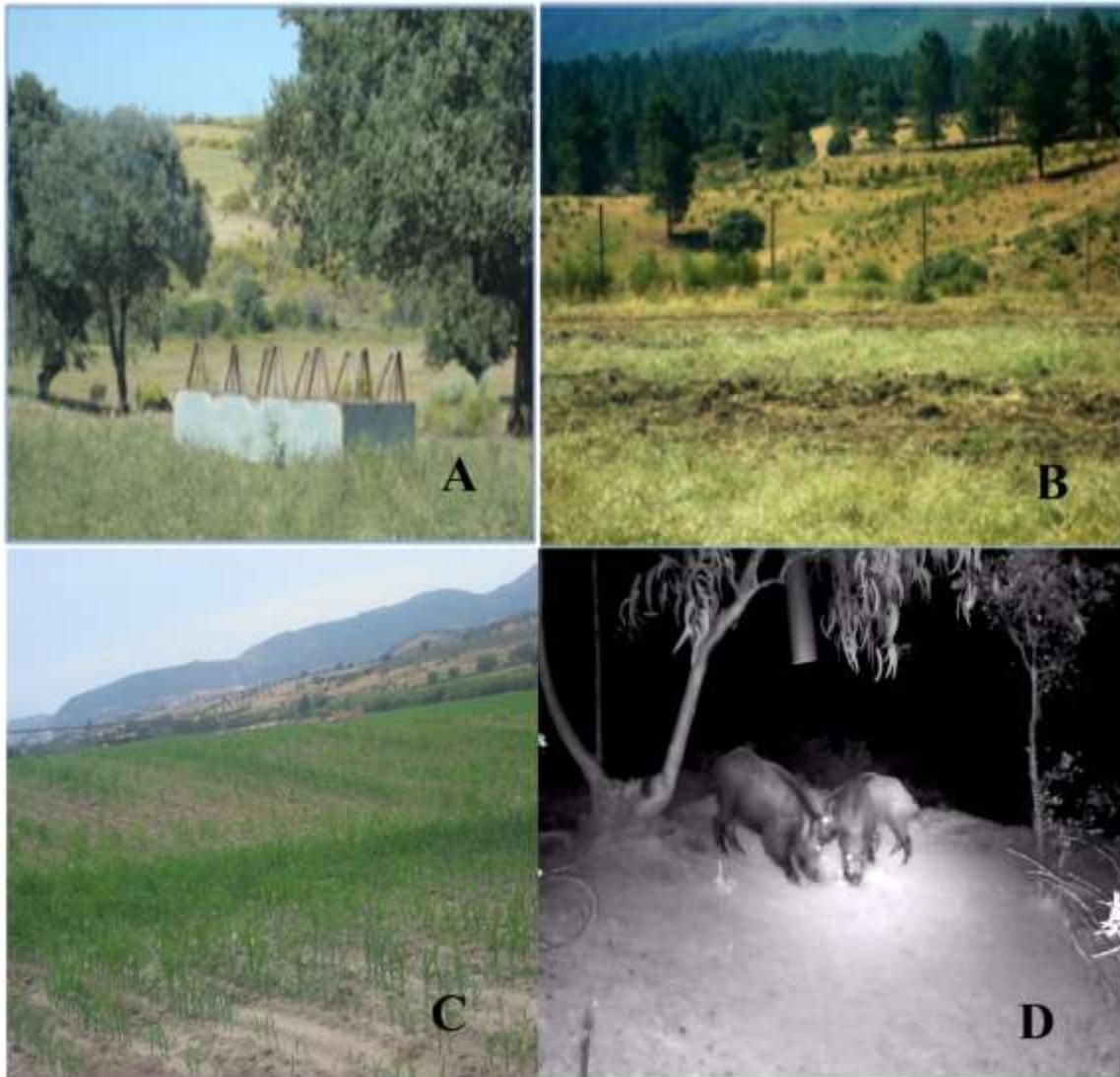
Em termos de classificação de risco dos pontos de alimentação, 5 são de nível máximo (12,5%), 29 de risco 4 (72,5%), 3 de nível intermédio (7,5%), 2 de risco 2 (5%), nenhum fator de nível 1 e somente um fator foi considerado como de não risco (2,5%). Desta feita, observa-se que os níveis de risco onde se enquadram a maioria dos pontos de alimentação são os níveis de risco mais elevados, o que pressupõe que esta seja uma temática a ter em conta quando se avalia a transmissão de TB entre espécies e

futuras medidas de biossegurança a implementar para reduzir o risco. Quando se aborda a interface bovinos - caça maior e a circulação de *M. bovis* em pontos de alimentação é a área E a que apresenta maior risco, uma vez que esta apresenta nove fatores de risco, sendo um de risco máximo (nível 5) e sete de nível de risco seguinte inferior (nível 4).

Analisando separadamente as áreas de aptidão cinegética das pecuárias, verifica-se a existência de 10 fatores de risco ligados à alimentação. Totalizando 23,8% dos 42 fatores analisados nestas áreas.

Nas áreas cinegéticas a suplementação alimentar é uma prática de manejo regular. A suplementação na área I não é realizada assiduamente, na medida que o território habitado pelas espécies de caça maior tem alimentação natural diversificada e suficiente para que não seja necessário recorrer à suplementação alimentar para atrair a caça maior; já na área J, além de cinco sementeiras existem, também, cinco cevadouros de milho. Estes pontos de alimentação foram classificados como fatores de risco elevado - sementeiras com nível de risco 4 e cevadouros com nível 5. A suplementação alimentar artificial é identificada como o principal fator de risco de transmissão da TB entre espécies de caça maior. Está provado que a agregação de javalis em alimentadores artificiais resulta num aumento do número de casos destes indivíduos positivos à TB, e existe uma correlação positiva, também, com o aumento do número de veados doentes (Vicente *et al.*, 2006).

Desta feita, considera-se a área J como de risco elevado para as espécies de caça maior, uma vez que existem 10 pontos de alimentação artificial - sementeiras e cevadouros (Figura 19 - C e D).



**Figura 19.** Exemplos (A - D) de pontos de alimentação encontrados nas explorações e classificados segundo o seu risco de transmissão de TB (fotografias do autor).

**A** - Comedouro de bovinos de risco nível 4: comedouro metálico em bom estado; 1 m de altura com facilidade de acesso a fauna silvestre; sem evidências do uso deste por ungulados silvestres, mas localizado em área de avistamento esporádico destes.

**B** - Alimento no solo de risco nível 4: zona onde o alimento é depositado no solo; observação de resíduos de alimento no solo; área de avistamento de ungulados silvestres.

**C** - Sementeira de risco nível 4: sementeira com objetivo de alimentação de bovinos e ungulados silvestres; avistamento de marcas de ungulados na área.

**D** - Cevadouro para caça maior de risco nível 5: área de alimentação artificial de espécies cinegéticas; presença de ungulados domésticos e de silvestres na mesma área; observação de marcas de uso por parte de ungulados.

#### 4.4.3. Armazenamento de alimento

Para se realizar a suplementação alimentar dos bovinos é necessário existir uma estrutura de armazenamento na exploração. Nesta, o feno e o alimento composto deve estar fora do alcance de bovinos, javalis, veados e outras espécies silvestres que podem ser reservatórios da doença, tais como texugos e pequenos roedores (Santos *et al.*, 2009). Em Inglaterra, está descrito que um dos maiores problemas de transmissão de *M. bovis* entre estes mamíferos silvestres e bovinos de aptidão leiteira, é a circulação dos texugos na área de manejo e armazenamento de alimento (Gortazar *et al.*, 2011).

O local de armazenamento de alimento e as suas condições constitui assim, um dos fatores analisados no protocolo de mitigação de risco desenvolvido neste trabalho, uma vez que, está provado que no feno, as micobactérias podem sobreviver até 55 dias (Santos *et al.*, 2015).

Na Tabela 15, está resumida a classificação de risco de todos os locais de armazenamento de alimento encontrados nas áreas pecuárias (A a H). Das oito áreas com interesse em reduzir o risco de TB na interface bovinos - caça maior, todas possuem pelo menos uma estrutura de armazenamento. Estas são classificadas consoante a forma como o alimento se encontra no seu interior - estado de conservação/deterioração e isolamento do ar e animais.

**Tabela 15.** Classificação de risco dos pontos de armazenamento de alimento nas áreas de A a H.

FATORES DE RISCO AVALIADOS	RISCO	ÁREAS EM ESTUDO								TOTAL
		A	B	C	D	E	F	G	H	
Armazenamento de alimento	0	1	1	1	1	1	1	1	3	10
	1		1							1
	2							1		1
	3									-
	4									-
	5									-
Total		1	2	1	1	1	1	2	3	12

Da totalidade das áreas, a maioria tem apenas um local de armazenamento de alimento e somente a B e a G têm locais de risco baixo (níveis 1 e 2 de risco). A área H é aquela que tem maior número de pontos de armazenamento de alimento, uma vez que, esses locais servem simultaneamente para alojar pequenos ruminantes durante o período

noturno. Todavia, nenhum deles apresenta risco segundo a tabela de classificação do Anexo III. No entanto, a área G é aquela que apresenta um local de armazenamento de maior risco (nível de risco 2) quando comparado a todos os locais de armazenamento avaliados, visto que, apresenta um armazém semi-aberto com o alimento acomodado no solo e com gradeamento ultrapassável por pequenos mamíferos (Figura 20).



**Figura 20.** Local de armazenamento de alimento para bovinos classificado com nível 2 de risco (fotografia do autor).

#### **4.4.4. Outros fatores de risco**

O conjunto de outros fatores de risco considerados no protocolo de mitigação de risco apresentado nesta dissertação, são de dois diferentes grupos: infraestruturas de apoio ao manejo das explorações e zonas pantanosas, contudo estas últimas só foram encontradas nas áreas cinegéticas (I e J).

As infraestruturas de apoio ao manejo são classificadas em relação ao risco de acordo com o local: acesso por parte de ungulados domésticos e silvestres e condições de higiene ao seu redor, proporcionando ou não condições de sobrevivência de micobactérias. Estas infraestruturas, uma vez que, têm como objetivo agilizar o processo de manejo das explorações, como o caso de ações sanitárias e de desparasitação, podem, por vezes, facilitar a agregação e o contato direto entre indivíduos. Existem sete infraestruturas de apoio analisadas nas oito áreas pecuárias e

nenhuma destas apresenta risco aparente para a transmissão de TB entre bovinos e caça maior.

Somente foi avaliada uma estrutura de apoio nas áreas cinegéticas, localizando-se na área I. Foi classificada com um risco de nível 1, uma vez que, se trata de uma porta de passagem de espécies de caça maior entre parcelas cinegéticas e ao seu redor existem terrenos com grande humidade. Podendo, assim, transformar-se esta zona de passagem uma área pantanosa; não se verifica, também, manutenção e higiene do local por parte dos gestores.

As zonas pantanosas, relativamente à classificação de risco apresentam semelhanças à das charcas, uma vez que, a principal característica de distinção entre os diversos níveis de risco das charcas são as dimensões e as condições apresentadas nas margens destas. As zonas pantanosas são por si só áreas terrosas e húmidas, onde, por exemplo, espécies como os javalis são atraídas para esgravatarem e "tomarem banho". São assim, potenciais pontos de contato indireto entre os diversos indivíduos que as utilizam. Como referido anteriormente, as condições do solo e humidade nestes locais são ótimas para a sobrevivência das micobactérias (Barasona *et al.*, 2013). No presente estudo, são identificadas 12 áreas pantanosas, como referido anteriormente, todas elas nas áreas cinegéticas. Todas elas são classificadas com risco elevado (nível 4 e 5), sendo que as que foram classificadas com risco 5 são as que apresentam menor tamanho, com alternância entre períodos de grande humidade e de seca e um uso afincado por parte da fauna silvestre, especialmente, por javalis (Figura 21).



**Figura 21.** Exemplos de áreas pantanosas. A - pântano de grandes dimensões e grande humidade; B - "banho de javali" que constitui uma área com grandes marcas do uso de javalis e em transição húmido-seco (fotografias do autor).

## **4.5. MEDIDAS DE BIOSSEGURANÇA**

Como protocolado, após a análise e classificação dos fatores de risco encontrados nas áreas estudadas, o passo seguinte é a proposta de medidas de biossegurança gerais ou aplicadas diretamente aos fatores de forma a mitigar o risco que estes apresentam. A aplicação de medidas de controlo e biossegurança com base na análise de risco é considerada uma boa escolha na mitigação do risco de potencial transmissão de TB num sistema multi-hospedeiros, visto que, existe uma transmissão bidirecional (Miller & Sweeney, 2013).

### **4.5.1. Medidas de biossegurança generalistas**

As medidas de biossegurança generalistas são aquelas que não são aplicadas diretamente e especificamente a fatores de risco encontrados e avaliados nas explorações. Estas são medidas/ações de carácter geral a que se deve proceder em todas as explorações pecuárias de forma a controlar e evitar uma possível infeção por agentes do MCT no seu território. A Tabela 16 lista as medidas sugeridas durante a aplicação do protocolo de mitigação e respetivas áreas pecuárias estudadas, tendo como base as medidas propostas por especialistas em diversos estudos (Cowie *et al.*, 2015b) e por investigadores do IREC que acompanharam o desenvolvimento do presente estudo.

As medidas de biossegurança generalistas dividem-se em medidas relacionadas com bovinos ou com caça maior e secundariamente com medidas de manejo ou de despiste de TB.

**Tabela 16.** Lista de medidas de biossegurança generalistas propostas e respectivas áreas de A a H (assinaladas a azul).

Medidas generalistas propostas	Áreas								Total
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Proibir toda a alimentação suplementar e armadilhas para a fauna silvestre nas explorações pecuárias.									3/8
Controlar o tamanho da população de caça maior, por exemplo, com a permissão de atos de caça nos seus territórios.									6/8
Cumprir o saneamento anual do efetivo bovino para despiste de TB.									7/8
Testar os bovinos cada 3 meses em efetivos infetados.									1/8
Adicionar o teste IFN- $\gamma$ ao teste de IDTC.									1/8
Obrigatoriedade dos testes de pré-movimentação.									8/8
Respeitar um período de quarentena de 90 dias na introdução de novos animais na exploração.									8/8
Manter bovinos separados de cabras.									1/8
Uso obrigatório de testes de despiste de TB em caprinos.									1/8
Uso de testes de despiste de outras espécies domésticas.									3/8
Prevenir contato com bovinos vizinhos com cercados duplos.									3/8
Usar cercados cinegéticos para prevenir o acesso de fauna silvestre a explorações pecuárias.									7/8
Retirada e destruição de carcaças de animais encontrados mortos nos terrenos.									1/8
Remover os subprodutos de caça do terreno após os atos de caça.									6/8
Higiene e limpeza das explorações.									8/8

O controlo e programa de erradicação da TB bovina baseia-se essencialmente no despiste em vida e abate dos bovinos positivos, assim, de forma a conseguir ter sucesso neste programa, existem 5 medidas que se devem cumprir em explorações de bovinos

em extensivo para além dos pressupostos legais obrigatórios neste programa: cumprir o saneamento anual (a DGAV obriga que este seja realizado uma vez por ano com penalização do efetivo ficar com a classificação T3S senão o cumprir); caso de efetivos infetados, o despiste deve ser realizado não anualmente, mas sim cada 3 meses; adicionar o teste de IFN-  $\gamma$  ao teste de IDTC, uma vez que, o IFN-  $\gamma$  é um meio de diagnóstico individual e o IDTC é para ideal para deteção da infeção em um efetivo, aumentando assim, a sensibilidade de deteção do agente (Allen *et al.*, 2010); garantir a obrigatoriedade de realizar testes de pré-movimentação (Humblet *et al.*, 2009); e a realização de uma quarentena (mínimo 90 dias) para novos animais introduzidos no efetivo provenientes doutra exploração, evitando assim, que estes sejam portadores do agente e o disseminem.

Em áreas de interface com vários reservatórios de TB presentes, está provado que aumentar a frequência do número de testes de IDTC têm um bom custo-benefício para o proprietário (Cowie *et al.*, 2015b), sendo assim esta a base das medidas de despiste propostas, principalmente para evitar a reinfecção em explorações anteriormente afetadas.

Além do maior entrave à erradicação da TB bovina ser a presença de caça maior potencialmente infetados com TB, também, aos ungulados domésticos coabitantes, deve-se aplicar medidas de biossegurança. A presença de ungulados domésticos, especialmente caprinos, são um foco de risco, uma vez que além destes serem portadores de *M. bovis* são, também, de *M. caprae* (igualmente capaz de causar TB bovina). A colocação de bovinos e caprinos em espaços físicos diferentes e a utilização de testes de despiste de TB aos caprinos, são medidas propostas na área A, que é a única área em estudo que se dedica à criação de caprinos para além de bovinos (Martínez-López *et al.*, 2013).

Em termos de manejo das explorações, especialistas afirmam que a medida de biossegurança principal para a mitigação do risco de transmissão entre bovinos e caça maior é banir a suplementação alimentar para a fauna silvestre nas áreas pecuárias (Cowie *et al.*, 2015b). A suplementação alimentar para espécies cinegéticas em terrenos pecuários aumenta o número destas espécies em coabitação com os bovinos, levando a uma maior predisposição para o contato tanto direto e indireto entre eles, aumentando o risco de transmissão dos agentes do MCT (Richomme *et al.*, 2013). Deve, também, haver um controlo da densidade de espécies de caça maior nestes territórios, podendo

realizar-se este controlo ou diminuição, caso seja necessário, pelo aumento do número de atos de caça nesses locais (MSU, 2009).

Prevenir o contato de bovinos entre explorações adjacentes com cercados duplos previne o potencial risco de transmissão de qualquer doença entre efetivos, incluindo a TB. Quanto à separação por uma barreira física entre ungulados domésticos e silvestres, esta apenas é conseguida pelo uso de cercado tipo cinegético. Um cercado do tipo cinegético, com malha de rede grossa e estreita, com altura superior a 2,20m e com uma profundidade de cerca de 0,50m evita a passagem de espécies de caça maior, como por exemplo, javalis, veados e gamos para o território de pastoreio dos bovinos, evitando a agregação destes em pontos como os de água e alimentação (Rodriguez-Prieto *et al.*, 2012).

O tratamento de resíduos de caça e de carcaças de animais mortos nas explorações de interface deve ser respeitado. Há diversos estudos que provam a sobrevivência das micobactérias em carcaças e vísceras de animais infetados em vida, levando a que a não remoção destes dos terrenos seja um foco de contaminação para qualquer animal necrófago, como é o caso do javali (Vicente *et al.*, 2006) ou que apenas contacte com elas por curiosidade e para explorar, que é um comportamento muitas vezes observado nos bovinos (Corner, 2006). Para os bovinos, a sugestão é utilizar o Sistema de Recolha de Cadáveres de Animais Mortos na Exploração (SIRCA) sempre que possível, uma vez que este transporta os cadáveres para um local afastado da exploração. Quanto às reses rejeitadas na inspeção sanitária após o ato de caça e resíduos, como vísceras, decorrentes desse processo, deve-se proceder ao enterramento, envio para uma unidade de tratamento de subprodutos (UTS) ou colocados em alimentadores de aves, consoante o risco de contaminação alimentar que apresentam (AFN *et al.*, 2010).

Juntamente a estas medidas, deve-se alertar os caçadores e gestores cinegéticos que existe um risco associado à movimentação de carcaças de animais caçados infetadas com TB de áreas onde se sabe que esta infeção está presente para áreas consideradas limpas e por tal, não o devem fazer (Nugent *et al.*, 2015).

Um plano de biossegurança não tem sucesso em qualquer exploração se nela não houver implementado um plano de práticas de higiene sistemático e rotineiro e para tal, esta deve ser considerada uma ação de manejo prioritária em todas das explorações (Pereira, 2004).

Para as áreas de carácter cinegético estudadas foram propostas outras medidas de biossegurança gerais diferentes daquelas propostas para as áreas pecuárias, na medida que, no caso das áreas I e J, o objetivo é manter densidades de caça maior suficientes para uma boa época venatória e mitigar o risco de transmissão de TB entre estas espécies simultaneamente.

Nas áreas cinegéticas a suplementação alimentar é muitas vezes praticada e a principal medida de biossegurança para mitigar o risco de transmissão de TB está relacionada com a proibição deste ato de manejo. Está descrito que a alimentação suplementar para caça maior tem uma maior influência positivamente nos veados do que nos javalis, pois esta nos veados, por exemplo, está associada a um aumento da taxa reprodutiva (Gortazar *et al.*, 2015a; Vicente *et al.*, 2013). A proibição do uso de suplementação é considerada impraticável pelos agricultores e caçadores, considerando estes, que outras medidas de biossegurança são mais importantes e não envolvem tantos prejuízos económicos. Eles consideram que esta proibição possa ser a causa de não existir em número suficiente de espécies de caça maior para os atos de caça (Cowie *et al.*, 2015b).

Em termos de espaços cinegéticos, onde a TB está provadamente presente, uma medida de biossegurança proposta é a utilização de uma ferramenta de controlo como o abate controlado de caça maior. Este abate em cerca de 50% de espécies com o javali, tende a reduzir a densidade animal e conseqüentemente, a prevalência de animais doentes no mesmo espaço, evitando assim, a transmissão intra-espécies cinegéticas (Miller & Sweeney, 2013).

Aparte destas medidas de biossegurança generalistas destinadas somente às áreas I e J, existem outras já descritas anteriormente para as áreas pecuárias, que se podem aplicar igualmente, tais como: uso de cercados cinegéticos (mais de 2,20m e profundidade de 0,5m) nos limites exteriores, uma vez que, se pretende manter confinadas as espécies de caça maior e evitar que circulem por áreas pecuárias; retirada de qualquer carcaça e tratamento de subprodutos de caça após o ato de caça; higiene e limpeza dos terrenos.

#### **4.5.1. Medidas de biossegurança específicas**

Para cada fator de risco (segundo o protocolo aplicado neste estudo) encontrado nas 8 áreas pecuárias de estudo e classificados segundo o Anexo III, foi proposta um ou

mais medidas que podem ser aplicadas especificamente a esse ponto. Estas medidas de biossegurança fazem parte de um conjunto de propostas de ação direcionadas a cada um dos fator de risco de forma a mitigar o risco de transmissão de TB nesse local. Para cada fator são propostas diversas estratégias de mitigação do risco, uma vez que há diversas formas de obter o mesmo resultado, consoante as características individuais de cada fator; por conseguinte, verificou-se em campo a avaliação de 153 fatores de risco inter-espécies, classificando 137 com risco entre 1 e 5 e para estes, foram sugeridas 231 medidas de biossegurança, uma vez que, se pode propor a aplicação de uma ou mais medidas para alguns dos fatores avaliados.

Em resumo, a Tabela 17 apresenta a divisão das 231 medidas propostas em três categorias: medidas relacionadas com a disponibilidade de água, medidas relacionadas com disponibilidade de alimento e medidas alternativas de manejo da exploração.

**Tabela 17.** Categorias e respetiva percentagem (%) das medidas de biossegurança específicas propostas.

Medidas propostas	Nº propostas	Percentagem (%)
Medidas relacionadas com a disponibilidade de água	110	47,6
Medidas relacionadas com disponibilidade de alimento	34	14,7
Medidas relacionadas com o manejo da exploração	87	37,7
Total	231	100

Verifica-se que aproximadamente 50% das propostas (47,6% do total) são medidas relacionadas com a disponibilidade de água nas explorações, nomeadamente medidas de biosseguranças a aplicar em charcas, rios, ribeiros e bebedouros. Este número elevado de medidas relacionadas com a água, está também, de acordo com o verificado no levantamento de fatores de risco em campo, uma vez que, os pontos de abeberamento inter-espécies constituíam 61,4% dos fatores de risco avaliados.

Secundariamente a esta categoria, existem 87 medidas relacionadas com o manejo da exploração (37,7%) e em menor número, 34 medidas são relacionadas com a alimentação (14,7%), tanto com pontos de alimentação como de armazenamento.

#### 4.5.1.1. Medidas relacionadas com a disponibilidade de água

A disponibilidade de água na exploração e as formas de abeberamento principalmente dos bovinos, é o foco principal de um plano de biossegurança com objetivo de mitigação do risco de transmissão de *M. bovis* inter-espécies (Tabela 18).

**Tabela 18.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com a disponibilidade de água nas explorações e o nº de explorações onde estas foram propostas.

Medidas relacionadas com a disponibilidade de água	Nº propostas	%	Nº de áreas
Cercar charcas de forma a evitar o uso compartilhado de ungulados domésticos e silvestres na mesma fonte de água.	45	40,9	8/8
Instalar bebedouros altos e metálicos para uso exclusivo dos bovinos.	40	36,4	8/8
Maneio da água circulante nos terrenos da exploração para prevenir o aparecimento de áreas pantanosas.	1	0,9	1/8
Cercar total ou parcialmente rios ou ribeiros.	10	9	6/8
Remover pontos de água.	6	5,5	2/8
Reparar uma fonte de abeberamento com fugas.	8	7,3	3/8
Total	110	100	8/8

Como referido anteriormente neste trabalho, a grande dificuldade na prevenção e redução da transmissão de *M. bovis* inter-espécies é conseguir evitar a agregação de um grande número de hospedeiros no mesmo local (Gortazar *et al.*, 2015b). Um dos principais pontos de agregação, especialmente em épocas de escassez, são os pontos de água e por tal, a medida de biossegurança que mais se propõe relacionada com a água é a de colocar uma rede ao redor dos pontos de água, como charcas e ribeiros (49,9%). É a forma mais prática e mais aceitável a nível de custo-benefício para o proprietário da exploração para alterar pontos de água e reduzir o possível risco que esse determinado ponto representa (Barasona *et al.*, 2013). Quando se cerca um ponto de água natural ou se remove (por exemplo, por enterramento de uma charca de pequenas dimensões com risco elevado), o proprietário da exploração deve proporcionar aos seus animais uma fonte de abeberamento adicional de forma a compensar as que desapareceram. Assim, verifica-se a necessidade de propôr a instalação de bebedouros adequados aos bovinos,

altos e metálicos, que não sejam acessíveis a ungulados silvestres (inclusive a cervídeos); contabilizando esta proposta um total de 36,4% das relacionadas com a água.

Durante a visita guiada às explorações estudadas, verificou-se a existência de algumas destas medidas de biossegurança mais comuns já aplicadas em campo, mas verificou-se também, diversas falhas; em muitos dos casos, observou-se que os bebedouros instalados não eram os mais adequados e eram utilizados por bovinos e caça maior conjuntamente, outros tinham diversas fugas e necessitavam de reparações; e observou-se fontes de água naturais (por exemplo, charcas) cercadas pelos proprietários, mas que o estado de conservação das redes não permitia que estas desempenhassem as suas funções adequadamente. Assim, foram propostas 8 medidas (7,30%) de forma a regularizar esta situação e reparar os danos de bebedouros e cercados.

#### 4.5.1.2. Medidas relacionadas com a disponibilidade de alimento

Secundariamente aos pontos de abeberamento, os pontos de alimentação e de armazenamento do alimento nas explorações são os fatores de risco analisados com maior incidência neste estudo, tendo sido propostas 38 medidas de biossegurança para aplicar em particular nestes locais (Tabela 19).

**Tabela 19.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com a disponibilidade de alimento nas explorações e o nº de explorações onde estas foram propostas.

Medidas relacionadas com a disponibilidade de alimento	Nº propostas	%	Nº de áreas
Modificar os hábitos de disponibilização de alimento aos bovinos.	21	61,8	6/8
Eliminação de um ponto de alimentação artificial (bovinos ou caça maior).	4	11,8	1/8
Modificar/reparar comedouros.	5	14,7	3/8
Condicionar o alimento com material anti-humidade e em locais altos (sobre paletes, por exemplo).	3	8,8	3/8
Instalar comedouros altos para bovinos onde os ungulados silvestres não possam aceder.	1	2,9	1/8
Total	34	100	8/8

Hábitos de disponibilidade de alimento devem ser adequados à presença ou não de caça maior conjuntamente a bovinos. Evitar que se acumulem resíduos de alimento após a alimentação dos bovinos de forma a posteriormente, estes não sejam uma atração para a caça maior. Desta feita, esta é uma das medidas com maior percentagem, uma vez que constitui 61,8% das propostas.

Eliminar pontos de alimentação artificiais e reparar comedouros existentes danificados são algumas das medidas com expressão percentual secundária. Sendo também, proposta a substituição de alguns pontos de alimentação, particularmente os que não têm um local físico e usam o solo com depósito de alimento e instalar comedouros novos, de preferência seletivos para bovinos (Gortazar *et al.*, 2015a).

O uso de locais à prova de fauna silvestre para armazenar o alimento deve ser feito em todas as explorações, colocando o alimento em paletes ou outra forma de manter o alimento alto, resguardando a comida do contato com pequenos mamíferos e da humidade (Humblet *et al.*, 2009). Uma vez que, os locais de armazenamento de alimento de todos os fatores de risco foram os que apresentaram uma classificação de risco mais baixa, foram apenas propostas oito medidas (8,8%) no sentido de melhorar a situação encontrada no local.

#### **4.5.1.3. Medidas relacionadas com o manejo da exploração**

No manejo pecuário e cinegético, há mudanças que se devem propor adequadas às medidas de biossegurança, tal como se pode verificar na Tabela 20.

**Tabela 20.** Descrição e percentagem (%) correspondente das medidas de biossegurança propostas relacionadas com o manejo da exploração e o nº de explorações onde estas foram propostas.

Medidas relacionadas com o manejo da exploração	Nº propostas	%	Nº de áreas
Não pastorear uma parcela da exploração numa determinada época crítica.	54	62,1	8/8
Gerar novas parcelas temporariamente.	9	10,4	4/8
Utilizar cercado elétrico num determinado ponto de risco para impedir o uso temporário deste por bovinos.	22	25,3	5/8
Pastoreio de uma parcela apenas com o efetivo da exploração não bovino.	1	1,1	1/8
Instalar portas em cercados ativadas por bovinos (evitam a entrada de ungulados silvestres, mas permitem o acesso a bovinos).	1	1,1	1/8
<b>Total</b>	87	100	8/8

Em termos de medidas de biossegurança específicas relacionadas com o manejo, a principal (correspondente a 62,1%) é o uso inteligente de parcelas em épocas críticas (tal como, a estação do ano de maior escassez), não as pastoreando quando estas representam um risco maior (Gortazar *et al.*, 2015a). Há um aumento de eficiência das formas de controlo de TB nas explorações se estas concentrarem os esforços de segregação das espécies em épocas onde existe pouca água ou muita comida (Cowie *et al.*, 2015a). Pode ser útil, caso não se consiga não pastorear uma parcela totalmente, dividir esta em novas parcelas temporárias, de forma a existir um distanciamento aos animais aos pontos de maior risco presentes nessa parcela (Barasona *et al.*, 2013).

O uso de medidas de exclusão como portas metálicas, cercados de rede, cercados elétricos ou comedouros inteligentes é uma medida que segrega bovinos e caça maior em fontes comuns, reduzindo assim, o risco de contato (Gortazar *et al.*, 2015a). Desta feita, medidas como as propostas (mencionadas na Tabela 20) são ferramentas chave na biossegurança das explorações pecuárias.

A construção de cercados temporários e o uso de cerca elétrica apresentam desvantagens como a frequência de manejo (são suscetíveis à destruição por parte de algumas espécies) e o alto custo, mas têm um grande potencial na diminuição do impacto económico e social de uma infeção ou reinfeção por TB numa exploração (Gortazar *et al.*, 2015b; Miller & Sweeney, 2013; Miller *et al.*, 2012).

Um estudo apresentado por Barasona *et al.* (2013), apresenta uma alternativa aos cercados e instalação de outra fonte de água ou alimento, propondo a instalação de portas metálicas ativadas pelos bovinos (Figura 22) nos cercados de forma a que os bovinos acedam a estes, mas as espécies de caça maior não. Estas portas operadas



**Figura 22.** Porta operada por bovinos (adaptado de Barasona *et al.*, 2013).

pelos bovinos funcionam com o uso de escovas por parte dos bovinos, acionando um mecanismo de abertura da porta. Foi relatado um curto período de aprendizagem por parte dos bovinos e estes constituem um investimento considerado pouco dispendioso, uma vez que o seu custo é inferior a 200€ e não usa eletricidade.

#### **4.5.1.4. Medidas relacionadas com o manejo cinegético**

Os fatores de risco em duas áreas de aptidão cinegético foram recolhidos em campo e analisados segundo o Anexo IV, também, estes foram classificados quanto ao risco e propostas medidas de forma a reduzir o risco de transmissão de TB. Desta feita, o risco é de transmissão entre espécies de caça maior e não entre bovinos e estes, considerando desta forma, estes resultados nesta dissertação como um aparte ao objetivo inicial: mitigação do risco de transmissão de TB na interface bovinos - caça maior.

A Tabela 21 resume a totalidade das medidas propostas aos gestores cinegéticos das áreas I e J, de forma a manter a população de caça maior destas áreas saudável e livre de TB. Foram propostas 45 medidas para estes fatores, sendo que as medidas relacionadas com a água e abeberamento de caça maior estão em maioria como o verificado anteriormente nos fatores inter-espécies.

**Tabela 21.** Medidas de biossegurança específicas propostas para as áreas cinegéticas (I e J), respectiva percentagem (%) e nº de áreas onde foi proposta.

Medidas relacionadas com o manejo cinegético	Nº propostas	%	Nº de áreas
Cercar pontos de abeberamento (especialmente pontos onde existe estagnamento de água).	3	6,7	2/2
Eliminar pontos de água.	15	33,3	2/2
Instalar mais pontos de abeberamento para caça maior.	10	22,2	2/2
Drenagem de água em determinadas zonas de forma a evitar a formação de áreas pantanosas.	5	11,1	2/2
Reparar cercados pré-existentis ao redor de pontos de água.	2	4,5	1/2
Aumentar o número/ dispersão dos pontos de alimentação destinados à caça maior.	10	22,2	1/2
<b>Total</b>	45	100	2/2

Estas medidas de biossegurança descritas têm como principal objetivo a mitigação do risco de transmissão intra-caça maior. Desta feita, o objetivo não passa por criar barreiras entre espécies, mas sim minimizar o contato entre eles (Humblet *et al.*, 2009), utilizando assim, uma estratégia de dispersão de pontos de agregação, tanto de abeberamento como alimentação. É também de realçar, a necessidade de eliminar e drenar a água de determinados pontos de água que surgem no terreno como pontos de água de risco elevado ou pântanos, onde espécies de caça maior, como os javalis se agregam e "brincam". Segundo a bibliografia, são os juvenis aqueles que têm uma maior prevalência de lesões compatíveis com TB nos atos de inspeção de caça, e são estes que utilizam a maior parte do tempo esses pontos considerados de risco e que contactam diretamente uns com os outros (Vicente *et al.*, 2013).

O gestor cinegético deve criar assim, o maior número de pontos de água e alimentação possível nos seus terrenos, e se possível de grandes dimensões e com alimento seletivo para cada espécie, de forma a dispersar e segregar as diversas populações de caça maior coabitantes (Mentaberre *et al.*, 2014).



## 5. CONCLUSÃO

O conceito "One Health" integra a saúde humana, animal e ambiental e deve ter a TB como uma preocupação atual, uma vez que, esta doença pode ter grandes implicações na saúde pública.

A TB é uma zoonose que causa muitas perdas económicas na produção pecuária por diminuição da produção, rejeições em matadouro, restrições ao movimento de animais vivos e realização de vazio sanitário na exploração, onde o trabalho apresentado se presta como opção válida e praticável no combate à TB.

Apesar da aplicação do protocolo utilizado estar simultaneamente a ser realizado em território espanhol, este trabalho pioneiro em Portugal tem como objetivo o conhecimento da realidade nacional e, particularmente, da zona sudeste da Região Centro de Portugal, atualmente incluída na zona de risco para a tuberculose em caça maior.

É de reter que a TB não é por si só uma questão a controlar na pecuária, pois esta tem grandes implicações nas espécies silvestres e pode ser uma ameaça para espécies em vias de extinção, como o lince ibérico.

O conhecimento das doenças emergentes na fauna silvestre baseia-se muito nas observações, estudos e relatórios cinegéticos. Em Portugal, a caça é vista maioritariamente como uma atividade lúdica que não tem o impacto económico que tem noutros países como por exemplo, em Espanha. Uma das preocupações que o setor da caça deve ter é preservar a sanidade da população cinegética. Assim sendo, deve-se promover o estudo, identificação de hospedeiros e fatores de risco para a transmissão da TB nas espécies cinegéticas. Contudo deve-se ter igualmente em linha de conta, o papel das espécies não cinegéticas na prevalência da TB na fauna silvestre. Este estudo é crucial para a implementação de medidas de controlo da TB na fauna silvestre e a sua possível transmissão às espécies domésticas.

O problema da TB animal, tanto na produção de bovinos, caça maior ou interface de ambos deve ser abordada pelos interessados nesta causa, como por exemplo, a administração pública, os produtores pecuários, os agricultores, os gestores cinegéticos, os caçadores, os guardas florestais, os médicos veterinários, os biólogos e outros intervenientes na comunidade científica, de forma conjunta e sem nunca esquecer todos os hospedeiros da TB, domésticos ou silvestres, envolvidos neste problema. É,

pois, necessário criar políticas comuns e aplicar medidas de proteção de saúde pública e de saúde animal em todos estes setores.

É esta interação pró-ativa entre os diversos intervenientes, que proporciona ao mesmo tempo a aplicação em campo de ferramentas de controlo da TB, como é o caso dos planos de biossegurança para explorações pecuárias apresentados nesta dissertação. O desenho de um plano específico para cada exploração apenas é possível com as informações prestadas pelos proprietários e funcionários das explorações pecuárias mas, também, com as dos gestores e caçadores das zonas de caça vizinhas.

Nenhuma exploração é igual. Assim, não se encontra o mesmo cenário nas diversas explorações mesmo que estas se localizem em áreas adjacentes. Por isso, é essencial que os planos de biossegurança sejam específicos, individuais e destinados a mitigar o risco dos fatores encontrados nos terrenos da própria exploração; pois só desta forma, o plano pode ser eficaz e reduzir o verdadeiro risco de transmissão da TB entre bovinos e caça maior nas explorações avaliadas.

As medidas preventivas e corretivas apresentadas neste trabalho tiveram por base, uma recolha, descrição e classificação dos fatores de risco [pontos de água (charcas, pântanos, rios e ribeiros), pontos de alimentação (comedouros e solo), bebedouros, estruturas de maneio e local de armazenamento do alimento], que fazem parte do quotidiano das explorações pecuárias. No entanto, a escolha dos fatores de risco a analisar nas explorações, assenta em três premissas base:

- Existência de altas densidades de caça maior, com prevalência de TB entre os 10 e 18%, o que leva a considerar esta área onde se inserem as explorações estudadas, como de risco;

- Aparecimento de situações de agregação espacial entre ungulados domésticos e silvestres, que permitem contactos indiretos inter-espécies. Estes, acontecem preferencialmente, em torno de pontos de água e de alimentação ou em locais naturalmente ricos em recursos, onde há sobrevivência de micobactérias por longos períodos de tempo;

- Presença de um clima mediterrânico com verões quentes e secos, que origina épocas de escassez de alimento e água, que afetam a condição física, imunitária e a própria suscetibilidade dos indivíduos à infeção por agentes da TB.

Baseando-se nestes três princípios base e nos resultados encontrados no presente estudo, conclui-se que os pontos de água são os fatores de risco em maior número encontrado nas oito explorações estudadas (94 dos 153 fatores analisados) e onde existe

maior número de contactos indirectos inter-espécies. Assim, a maioria das medidas corretivas específicas propostas para os fatores de risco incentivam à instalação de barreiras físicas em pontos água e de alimentação, como por exemplo, colocação de cercados em determinados pontos de agregação, permitindo a utilização desses pontos por ungulados domésticos ou silvestres, sem utilização partilhada por parte das várias espécies coabitantes. Para além da instalação destas barreiras físicas, é de considerar a implementação de medidas alternativas de manejo pecuário, tal como a gestão inteligente das pastagens/parcelas das explorações consoante a estação do ano ou criação de novas parcelas para além das pré-existentes. O uso de cães pastores pode tornar-se, também, uma forma interessante de dispersão das espécies oportunistas coabitantes e reduzir assim, o risco de transmissão de TB.

Apesar da recomendação destas medidas, deve ter-se em consideração que são os produtores pecuários os verdadeiros responsáveis pela aplicação destas em campo. Todavia, serão estas medidas aplicadas pelos produtores quando confrontados com os seus custos? Para que a aplicação se verifique deve ser o médico veterinário e as diversas entidades competentes a incentivar e prestar o apoio técnico aos produtores demonstrando qual a relação entre o custo/eficácia destas medidas.

É um erro adiar a implementação de um plano de biossegurança nas explorações pecuárias enquanto se espera que diminua o risco de infeção na fauna silvestre. Por conseguinte, simultaneamente à implementação do plano recomenda-se a aplicação de boas práticas cinegéticas nas áreas envolventes, tal como, a autorização de caça nos territórios da exploração (apesar de esta não ser considerada por muitos uma medida de controlo apropriada), pretendendo-se assim, uma diminuição do número de ungulados silvestres potencialmente infetados.

Uma vez aplicados os planos de biossegurança, deve haver um trabalho posterior de reforço e manutenção dos mesmos, de forma a manter um risco mínimo de transmissão de TB na interface bovinos - fauna silvestre. É de reter, que qualquer estratégia de controlo sanitário nesta interface ao longo dos anos, não pode ser constituída por uma única ferramenta, mas sim, uma estratégia de integração de biossegurança, controlo populacional, imunização e uma correta gestão cinegética das áreas envolventes.

Em relação ao estudo do risco intra-específico nas áreas de aptidão cinegética, extra ao protocolo de mitigação de risco de transmissão da TB na interface bovinos -

caça maior, este revelou-se de grande importância. A identificação dos principais hospedeiros, bem como o conhecimento dos fatores de risco intra-espécie e o seu impacto nas espécies de caça maior, permitiu avaliar a atual situação das zonas de caça portuguesas quanto à TB, para além dos potenciais efeitos desse risco na saúde pública.

A população de javalis e cervídeos, tal como a dos texugos, encontra-se em grande expansão geográfica na Europa. Esta situação resulta de grandes alterações na gestão cinegética e de mudanças na forma de produção pecuária e agrícola ao longo dos anos. Assim, as medidas de biossegurança propostas para as áreas cinegéticas no presente trabalho têm como principal objetivo, evitar a partilha de recursos naturais ou artificiais (abeberamento e alimentação), a título de exemplo, a maximização do número de pontos de água e de alimentação, permite dispersar os indivíduos de uma determinada área, de forma a minimizar o contato intra-espécies de caça maior nos pontos de agregação.

Numa intervenção futura no combate à TB em espécies silvestres, há aspetos que geram questões em relativamente a infeções compartilhadas entre a pecuária e o setor cinegético, como por exemplo, a eliminação seletiva de indivíduos visivelmente doentes ou o tratamento de subprodutos de caça. A existência de períodos temporais de maior risco para a transmissão de TB na fauna silvestre é o tópico mais questionado em relação à transmissão intra-espécies de caça maior. Sabe-se que a época de escassez de alimento e água é a mais problemática, pelo que se torna imprescindível avaliar a situação atual de forma a aplicar qualquer medida de controlo.

Em conclusão, a aplicação dos planos de biossegurança propostos nas oito explorações pecuárias deste estudo deve ser seguida e, no futuro, devem analisar-se os resultados destes planos. A análise futura permitirá verificar se existiu realmente uma mitigação do risco de transmissão de TB na interface bovinos - caça maior, e se simultaneamente há uma diminuição da prevalência de lesões compatíveis com TB nas diversas espécies coabitantes.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Acevedo, P., Ruiz-Fons, F., Vicente, J., Reyes-Garcia, A. R., Alzaga1, V., Gortazar, C. (2008). Estimating red deer abundance in a wide range of management situations in Mediterranean habitats, *Journal of Zoology* 276 (2008) 37–47. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2008.00464.x>
- Acevedo, P., González-quirós, P., Prieto, J. M., Etherington, T. R., Gortázar, C., & Balseiro, A. (2014). Generalizing and transferring spatial models : A case study to predict Eurasian badger abundance in Atlantic Spain. *Ecological Modelling*, 275, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2013.12.011>
- Acevedo, P., Romero, B., Vicente, J., Caracappa, S., Galluzzo, P., Marineo, S., ... Gortazar, C. (2013). Tuberculosis Epidemiology in Islands : Insularity , Hosts and Trade, 8(7). *Plus One* July 2013 | Volume 8 | Issue 7 | e71074 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071074>
- ACOS (2016). Programa de Acção do ADS de Beja – 2016, 3, 3–5.
- AFN e DGV (2010). Guia de boas práticas higio-sanitárias: Caça maior. Lisboa: Autoridade Florestal Nacional e Direção Geral de Veterinária.
- Allen, A. R., Minozzi, G., Glass, E. J., Skuce, R. A., McDowell, S. W. J., Woolliams, J. A. and Bishop, S. C. (2010). Bovine tuberculosis: the genetic basis of host susceptibility. *Proc. R. Soc. B.* 2010.
- ANMP (2016). Variáveis e Indicadores. Associação Nacional dos Municípios Portugueses (ANMP). Web Site: <http://www.anmp.pt/anmp/pro/mun1/mun101w3.php?cod=M6060>
- Anónimo (2017). As espécies de caça. Web site: <http://www.apaginadomonteiro.net/especiesdecaca.htm> (acedido em: 5 de setembro de 2017, 16h45).
- Aranaz, A., Juan, L. De, Montero, N., Sa, C., Galka, M., Romero, B., ... Domínguez, L. (2004). Bovine Tuberculosis ( *Mycobacterium bovis* ) in Wildlife in Spain, 42(6), *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, June 2004, p. 2602–2608. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2602>
- Armenteros, J.A., Barasona, J.A., Boadella, M., Acevedo, P., Gortazar, C. and Vicente, J. (2013). Una propuesta para considerar aspectos sanitarios en la regulación cinegética. *Revista Científica de Ecología y Medio Ambiente* 22(2): 54-60.
- Barasona, J. A., Gortázar, C., & Vicente, J. (2013). Farm-level risk factors for the occurrence, new infection or persistence of tuberculosis in cattle herds from South-Central Spain. *Preventive Veterinary Medicine*, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.11.002>
- Barasona JA, Latham MC, Acevedo P, Armenteros JA, Latham DM, Gortazar C, Carro F, Soriguer RC, Vicente J (2014). Spatiotemporal interactions between wild boar and cattle: implications for cross-species disease transmission. *Veterinary Research* 45:122.

- Barasona, J. A., Vercauteren, K. C., Saklou, N., Gortazar, C., & Vicente, J. (2017). Effectiveness of cattle operated bump gates and exclusion fences in preventing ungulate multi-host sanitary interaction. *Preventive Veterinary Medicine*, (April 2013). <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.03.009>
- Barasona JA. (2015). Epidemiología y prevención en la interacción sanitaria entre ungulados domésticos y silvestres. *PhD Dissertation, IREC- University of Castilla - La Mancha. Ciudad Real, Spain.*
- Barasona JA, Torres MJ, Aznar J, Gortazar C, Vicente J (2016). DNA detection reveals Mycobacterium tuberculosis complex shedding routes in its wildlife reservoir the Eurasian wild boar. *Transboundary and Emerging Diseases*, in press.
- Beltran-Beck, B., Ballesteros, C., Vicente, J., La Fuente, J. and Gortazar, C. (2012). Progress in oral vaccination against Tuberculosis in Its Main wildlife reservoir in Iberica, the Eurasian Wild Boar. *Veterinary Medicine International*, Vol 2012.
- Boinas, F. (2006). Tuberculose bovina. *I Colóquio Intersectorial de Saúde Pública - Antropozoonoses 28 de Novembro de 2006, Coimbra*, 1–12.
- Boniotti, M. B., Gaffuri, A., Gelmetti, D., Tagliabue, S., Chiari, M., Mangeli, A., ... Lodovica, M. (2014). Detection and Molecular Characterization of Mycobacterium microti Isolates in Wild Boar from Northern Italy, *Journal of Clinical Microbiology* 52(8), 2834–2843. <https://doi.org/10.1128/JCM.00440-14>
- Cabral, L. (2009). Tejo/Tajo: Parque Natural do Tejo Internacional. Artigo na Revista Adufe (Revista cultural de Idanha-a-Nova), 14, Janeiro/Junho 2009.
- Caiola, L., Fernandez, P., & Martins, M. (n.d.). Análise do Padrão Espacial da Tuberculose em Bovinos e Ungulados Selvagens na Beira Interior Sul, 6–7.
- Campos, H. S. (2006). Etiopatogenia da tuberculose e formas clínicas., *Curso de tuberculose - aula 2*. 29–35.
- Caro, J., Delibes-Mateos y Arroyo, B. (2014). La gestión cinegética y la conservación de especies. *Revista Ambienta*, 108, 68-79.
- Catanho, H., & Boinas, T. N. F. (2006). CIÊNCIAS VETERINÁRIAS VI Encontro da Sociedade Portuguesa de Epidemiologia e Medicina Comunicações orais Painel “ Doenças Emergentes ” Programa Entomológico para a Vigilância, 319–340.
- Cesmac, C. U. (n.d.). *MANUAL DE BIOSSEGURANÇA*.
- CFSPH, Iowa State University (2009). *Bovine Tuberculosis*, (October 2007), 1–6.
- Clima-data (2017). *Clima-data.org: climograma Vila Velha de Ródão*. Web site: <https://pt.climate-data.org/location/61683/> (Acedido em: 15 julho 2017, 10h25).
- CMVVR (2017). *Câmara Municipal de Vila Velha de Ródão*. Web site: <http://www.cm-vvrodao.pt/> (Acedido em: 15 julho 2017, 12h34).
- Cole, S. T. (2002). REVIEW ARTICLE Comparative and functional genomics of the Mycobacterium tuberculosis complex. *Microbiology* (2002), 148, 2919–2928.
- Commission, E., & The, R. O. F. (2012). Meeting of the “ Bovine Tuberculosis ” subgroup of the Task Force for Monitoring Animal Disease Eradication , held in Worchester, (March).

- COPRAPEC. (2013). Informações Técnicas – Testes de Pré-Movimentação de Bovinos.
- Corner, L. A. L. (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. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.015>
- Cosivi, O., Grange, J. M., Daborn, C. J., Raviglione, M. C., & Fujikura, T. (1999). Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Countries, *Emerging Infectious Diseases* 4(1), 59–70.
- Costa, M., Tavares, V.R., Silva, A.C., Campos, D.J., Bueno, S.K. (n.d.). TUBERCULOSE: UMA REVISÃO DE LITERATURA.
- Cowie CE, Beck BB, Gortazar C, Vicente J, Hutchings MR, Moran, Piran D, White CL (2014) Risk factors for the detected presence of *Mycobacterium bovis* in cattle in south central Spain. *European Journal of Wildlife Research* 60(1): 113-123
- Cowie CE, Marreos N, Gortázar C, Jaroso R, White PCL, Balseiro A (2015a). Shared risk factors for multiple livestock diseases: A case study of bovine tuberculosis and brucellosis. *Research in Veterinary Science* 91: 491-497.
- Cowie, C. E., Gortázar, C., White, P. C. L., Hutchings, M. R., & Vicente, J. (2015b). Stakeholder opinions on the practicality of management interventions to control bovine tuberculosis. *The Veterinary Journal*. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.02.022>
- Cowie, C. E., Hutchings, M. R., Barasona, J. A., Gortázar, C., Vicente, J., & White, P. C. L. (2016). Interactions between four species in a complex wildlife : livestock disease community : implications for *Mycobacterium bovis* maintenance and transmission, *Eur J Wildl Res* (2016) 62:51–64. <https://doi.org/10.1007/s10344-015-0973-x>
- Cross, P. C., & Getz, W. M. (2006). Assessing vaccination as a control strategy in an ongoing epidemic : Bovine tuberculosis in African buffalo, *Ecological modelling* 196, 6, 494–504. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2006.02.009>
- Cunha, M. V., Monteiro, M., Carvalho, P., Mendonça, P., Albuquerque, T., e Botelho, A. (2011). Multihost tuberculosis: insights from the portuguese control program. *Veterinary Medicine International*, 2011, 795165.
- Cunha, V., Azorí, B., & Albuquerque, T. (2017). Exposure of Threatened Accipitridae to *Mycobacterium bovis* Calls for Active Surveillance. *EcoHealth*. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1226-0>
- Cunha, M. V, Matos, F., Canto, A., Albuquerque, T., Alberto, J. R., Aranha, J. M., ... Botelho, A. (2012). Implications and challenges of tuberculosis in wildlife ungulates in Portugal : A molecular epidemiology perspective, *Research in Veterinary Science* 92, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.03.009>
- Davies, P. D. O. (2006). Tuberculosis in humans and animals: are we a threat to each other? *Journal of the Royal Society of Medicine*, 99(10), 539–40. <https://doi.org/10.1258/jrsm.99.10.539>
- Decreto-Lei n.º 202/2004 de 18 de Agosto.
- Decreto-Lei n.º 31/2005 de 14 de Fevereiro.

- Decreto-Lei n.º 272/2000 de 8 de Novembro, 6230–6235.
- DGS (2017). Web site: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2016/03/29/incidencia-de-tuberculose-em-portugal-2015/> (Acedido a 1 Junho de 2017, 15h30).
- Díez-Delgado I, Rodríguez O, Boadella M, Garrido JM, Sevilla IA, Bezos J, Juste R, Domínguez L, Gortázar C (2016). Parenteral vaccination with heat-inactivated *Mycobacterium bovis* reduces the prevalence of tuberculosis-compatible lesions in farmed wild boar. *Transboundary and Emerging Diseases*, en prensa.
- Di Marco, V., Mazzone, P., Capucchio, T., Boniotti, B., Aronica, V., & Russo, M. (2012). Epidemiological Significance of the Domestic Black Pig ( *Sus scrofa* ) in Maintenance of Bovine Tuberculosis in Sicily, *Journal of Clinical Microbiology* p. 1209–1218. <https://doi.org/10.1128/JCM.06544-11>
- Dondo, A., Zoppi, S., Rossi, F., Chiavacci, L., Barbaro, A., Garrone, A., Benedetto, A., Gorla, M., (2007).. *Mycobacteriosis in wild boar : Results of 2000- 2006 activity in North-Western Italy*, *Epidémiol. et santé anim.*, 2007, 51, 35-42.
- DGAV (2016). Programa Nacional de Controlo e Erradicação da Tuberculose Bovina para 2016: Portugal. Lisboa: Direção Geral de Alimentação e Veterinária
- DGV (2005). MANUAL DE PROCEDIMENTOS PARA A REALIZAÇÃO PE, 1–8.
- DGV (2011). EDITAL Nº1-Tuberculose em caça maior
- DSMIN (Diagnóstico Social do Município de Idanha-a-Nova) (2005). NÚCLEO EXECUTIVO IDANHA-A-NOVA, JANEIRO DE 2005.
- Duarte, E., Domingos, M., Albuquerque, T., Amado, A. and Botelho, 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. *RPCV* (2007), 102 (563-564), 299-303.
- Enticott, G. (2008). The spaces of biosecurity : prescribing and negotiating solutions to bovine tuberculosis, *Environment and Planning A* 2008, 40, 1568–1583. <https://doi.org/10.1068/a40304>
- Europeu, C. (2016). *Programas de erradicação, controlo e vigilância destinados a limitar as doenças animais*. <https://doi.org/10.2865/27647>
- Farfán, M. A. N., Uerrero, J. C. A. G., Eal, R. A. R., Arbosa, A. M. Á. B., & Argas, Y. J. M. A. V. (2004). CARACTERIZACIÓN DEL APROVECHAMIENTO CINEGÉTICO DE LOS MAMÍFEROS EN ANDALUCÍA, *Galemys* 16(1), 41–59.
- Ferré, L. (2010). El complejo tuberculoso : interacción con la fauna salvaje. Presencia en I curso sobre enfermedades emergentes y fauna salvaje.
- FMVZ/VPS (2012). *Mycobacterium Bovis* como agente causal da tuberculose humana *Mycobacterium Bovis* Como Agente Causal da Tuberculose Humana, *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP, São Paulo*, v.10, n.2 e 3, p.22-31.
- Fonseca, A. (2011). Problemática da tuberculose em ungulados domésticos e selvagens. Sessões de Esclarecimento DGV-2011.
- García, F. J., Orueta, J. F. and Aranda, Y. (1998). Permeabilidad de los vallados

cinegeticos de caza mayor, efecto barrera e implicaciones para la conservacion de especies amenazadas. *Galemys* 10 (nº especial).

- Gavin, W., Jennifer, B., Mark, C., Richard, C., Tim, C., Fuente, D., ... Alastair, W. (2009). TECHNICAL REPORT submitted to EFSA Scientific review on Tuberculosis in wildlife in the EU 1, (178), 1–117.
- Glaser, L., Carstensen, M., Shaw, S., ..., Thomsen, B. (2016). Descriptive Epidemiology and Whole Genome Sequencing Analysis for an Outbreak of Bovine Tuberculosis in Beef Cattle and White-Tailed Deer in Northwestern Minnesota. *PLOS ONE*.
- Gonçalves, R. (2015). Contribuição para o estudo espaçotemporal da Tuberculose bovina em caça maior e em bovinos no concelho de Idanha-a-Nova. Dissertação de Mestrado do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.
- Gortázar, C., Vicente, J., Samper, S., Garrido, J.M., Fernandez-De-Mera, I.G., Gavin, P., Juste, R. A., Martin, C., Acevedo, P., De La Puente, M., Hofle, U.. (2005) Molecular characterization of Mycobacterium tuberculosis complex isolates from wild ungulates in south-central Spain. *Veterinary Record* 36: 43–52.
- Gortázar, C., Ferroglio, E., Höfle, U., Frölich, K., e Vicente, J. (2007). Diseases shared between wildlife and livestock: a European perspective. *European Journal of Wildlife Research*, 53(4), 241–256
- Gortazar, C., Delahay, R., McDonald, R., Boadella, M.,..., Acevedo, P. (2011). The status of tuberculosis in European wild mammals, *Mammal Review*, 42, 193–206. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2011.00191.x>
- Gortazar, C., Diez-delgado, I., Barasona, J. A., Vicente, J., Fuente, J. D. La, & Boadella, M. (2015a). The wild side of disease control at the wildlife-livestock-human interface: a review, *Frontiers in veterinary medicine*, January 2015, Volume 1, Article 27, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2014.00027>
- Gortázar, C., Health, A., Irec, S., Uclm, C., & Toledo, R. De. (2015b). Open questions and recent advances in the control of a multi-host infectious disease: animal tuberculosis Case study: Southeast Asia, *Mammal Review*, 45, 160–175. <https://doi.org/10.1111/mam.12042>
- Gouveia, J. (2009). NATURAL MONUMENT OF PORTAS DE RÓDÃO Resumo As “ Portas do Ródão ” constituem o ex-libris natural de Vila Velha de Ródão e Nisa , onde o Tejo, 1–74.
- Griffith, A. S. (n.d.). TUBERCULOSIS IN CAPTIVE WILD ANIMALS .
- Gunn-More, D.A., Jenkins, P. A., & Lucke, V. M. (1996). Feline tuberculosis: a literature review and discussion of 19 cases caused by an unusual mycobacterial variant. *The Veterinary Record*, January 20, 1996.
- Guta, S., Casal, J., Saez, J. L., Pacios, A., Garcia, P., Napp, S., & Allepuz, A. (2014). Ac ce p t. *Preventive Veterinary Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.04.007>
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J., Williams, S. (1993). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9<sup>th</sup> Edition. Lippincott Williams & Wilkins. pp 597 - 603.

- Humblet, M., Oschiroli, M. L. B., & Aegerman, C. S. (2009). Review article Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle : a stratified approach. *Vet. Res.* (2009) 40:50. <https://doi.org/10.1051/vetres/2009033>
- Hutchings, M. R. & Harris, S. (1997). Effects of Farm Management Practices on Cattle Grazing Behaviour and the Potential for Transmission of Bovine Tuberculosis from Badgers to Cattle, *The Veterinary Journal* 1997, 153, 149–162.
- ICNF (2017). Instituto de Conservação da Natureza e Florestas. Web site: <http://www.icnf.pt/portal/caca/Caca.qry?Distrito=5&Concelho=511&Circunscricao=&Nucleo=&TipoZona=&Numero=&template%3Amethod=Pesquisar> (Acedido em: 15 julho de 2017, 18h30).
- Inovação, I. E., & Saúde, E. M. (2014). Tuberculose bovina – gap analysis Percurso da apresentação.
- Instituto Nacional de las cualificaciones (n.d.). CUALIFICACIÓN PROFESIONAL : Producción de animales cinegéticos Competencia general Unidades de competencia Entorno Profesional Ámbito Profesional Sectores Productivos Ocupaciones y puestos de trabajo relevantes Módulos Formativos, 1–51.
- Katale, B. Z., Mbugi, E. V, Karimuribo, E. D., Keyyu, J. D., Kendall, S., Kibiki, G. S., ... Matee, M. I. (2013). Prevalence and risk factors for infection of bovine tuberculosis in indigenous cattle in the Serengeti ecosystem, Tanzania. *BMC Veterinary Research* 2013, 9:267
- Kock, R. a. (2005). What is this Infamous “Wildlife/Livestock Disease Interface?” A Review of Current Knowledge for the African Continent. *Conservation and Development Interventions at the Wildlife/Livestock Interface: Implications for Wildlife, Livestock and Human Health*, 1–13. Retrieved from <ftp://ftp.fao.org/docrep/nonfao/lead/x6198e/x6198e01.pdf>
- LISTA DAS DOENÇAS DE DECLARAÇÃO OBRIGATÓRIA A NÍVEL NACIONAL (Última atualização: Abril 2015). (2015), 1–3.
- Lamela, M. (2011). Edital nº1 Tuberculose em caça maior. Sessões de esclarecimento - DGV 2011.
- Lopes, F. (2011). Tuberculose bovina em caça maior. Sessões de esclarecimento – DGV 2011.
- López, G., López-parra, M., Garrote, G., Fernández, L., Rey-wamba, T., Arenas-rojas, R., ... Ruiz, G. (2014). Evaluating mortality rates and causalities in a critically endangered felid across its whole distribution range. <https://doi.org/10.1007/s10344-013-0794-8>
- Martinez-Guijosa, J., Lima, J.F., Barasona, J.A., Acevedo, P., Boadella, M., Cano, D., Cuevas, M.I., Garcia-Bocanegra, I., Gortazar, C., Vicente, J. (2016). Biosecurity at the livestock-wildlife interface: farm characterization and design of a field protocol. In 2016 Young Antigone meeting, 18-20 September 2016, Cambridge, UK.
- Martinez-Lopez, B., Barasona, J., Gortazar, C., Rodriguez-Prieto, V., Vizcaíno, J. and Vicente, J. (2013). Farm-level risk factors for the occurrence, new infection or persistence of tuberculosis in cattle herds from South-Central Spain. *Preventive*

- Meikle, V., Bianco, M. V., Blanco, F. C., Gioffré, A., Garbaccio, S., Vagnoni, L., ... Cataldi, A. (2011). Evaluation of pathogenesis caused in cattle and guinea pig by a *Mycobacterium bovis* strain isolated from wild boar, *BMC Veterinary Research* 2011, 7:37.
- Mendoza, J. (2004). La tuberculosis bovina en el porcino Ibérico de cría extensiva. *Mundo ganadero*, Año 2004, Año 15, N° 168, pp 36-41.
- Michel, A. (2002). Implications of Tuberculosis in African Wildlife and Livestock. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 969: 251-255.
- Michel, A. L., Bengis, R. G., Keet, D. F., Hofmeyr, M., & Klerk, L. M. De. (2006). Wildlife tuberculosis in South African conservation areas: Implications and challenges, *Veterinary Microbiology* 112, 91–100. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.11.035>
- Michel, A. L., Coetzee, M. L., Keet, D. F., Mare, L., ... Helden, P. Van. (2008). Molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* isolates from free- ranging wildlife in South African game reserves, *Veterinary Microbiology* 133, 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.07.023>
- Miller, R. S. and Sweeney, S. J. (2013). *Mycobacterium bovis* ( bovine tuberculosis ) infection in North American wildlife: current status and opportunities for mitigation of risks of further infection in wildlife populations, *Epidemiol. Infect.* (2013), 141, 1357–1370. <https://doi.org/10.1017/S0950268813000976>
- Miller, R., Farnsworth, M. and Malmberg, J. (2012). Diseases at the livestock-wildlife interface: Status, challenges and opportunities in the United States. *Preventive Veterinary Medicine* 110(2013), 119-132.
- MSU, Michigan State University (2009). Wildlife Risk\*a\*syst for Bovine TB. *FAS* 113. December 2009.
- Muñoz-Mendoza, M., Marreros, N., Boadella, M., Gortázar, C., Menéndez, S., Juan, L. De, ... Balseiro, A. (2013). Wild boar tuberculosis in Iberian Atlantic Spain: a different picture from Mediterranean habitats, *BMC Veterinary Research* 2013, 9:176, 1–11.
- Muñoz-Mendoza, M., Romero, B., Cerro, A., Gortazar, C. ... Balseiro, A. (2015). Sheep as a Potential Source of Bovine TB: Epidemiology, Pathology and Evaluation of Diagnostic Techniques, *Transboundary and Emerging Diseases*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/tbed.12325>
- Murakami, P. S., Benício, R., Fuverki, N., & Tuberculose, A. W. (2009). TUBERCULOSE BOVINA: SAÚDE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA, *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 12, n. 1, p. 67-74, jan./jun. 2009.
- Murray, P., Rosenthal, K., Pfaller, M. (2009). *Microbiologia Médica*. Rio de Janeiro, Elsevier, 2009. pp 275 - 279.
- Napp, S., Allepuz, A., Mercader, I., Nofrarías, M., López-Soria, S., Domingo, M., ... Val, B. P. de. (2013). Evidence of goats acting as domestic reservoirs of bovine tuberculosis. *Veterinary Record*, vetrec–2012–101347.

- Nugent G (2011). Maintenance, spillover and spillback transmission of bovine tuberculosis in multi-host wildlife complexes: A New Zealand case study. *Veterinary Microbiology* 151: 34–42
- Nugent, G., Gortazar, C. and Knowles, G. (2015). The epidemiology of *Mycobacterium bovis* in wild deer and feral pigs and their roles in the establishment and spread of bovine tuberculosis in New Zealand wildlife. *New Zealand Veterinary Journal*, 63(1), 54-67.
- O'Reilly, L. M., & Daborn, C. J. (1995). The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review. *Tubercle and Lung Disease*, 76(SUPPL. 1), 1–46. [https://doi.org/10.1016/0962-8479\(95\)90591-X](https://doi.org/10.1016/0962-8479(95)90591-X)
- Odone, A., Tillmann, T., Sandgren, A., Williams, G., Rechel, B., Ingleby, D., ... Mckee, M. (2014). Tuberculosis among migrant populations in the European Union and the European Economic Area, *European Journal of Public Health* 25(3), 506–512. <https://doi.org/10.1093/eurpub/cku208>
- OIE (2017). General Disease Information Sheets: Bovine Tuberculosis. 1-6.
- Palmer, M. V. (2013). *Mycobacterium bovis*: Characteristics of Wildlife Reservoir Hosts. *Transboundary and Emerging Diseases* 60 (Suppl. 1). 1-3.
- Pathan, A. A., Sander, C. R., Fletcher, H. A., Poulton, I., Alder, N. C., Beveridge, N. E. R., ... Mcshane, H. (2007). Boosting BCG with Recombinant Modified Vaccinia Ankara Expressing Antigen 85A : Different Boosting Intervals and Implications for Efficacy Trials, Plus One October 2007, 10, e1052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001052>
- PATUBES (2017). Plan de Actuación sobre TUBerculosis en Especies Silvestres de la Agencia española de consumo, seguridad alimentaria y nutrición. Espanha.
- PDI (2012). Plano de Desenvolvimento Integrado do Município de Idanha-a-Nova (PDI) de maio de 2012. Web Site: [http://www.cmidadhanova.pt/media/76471/Relatorio\\_PDI\\_IN\\_2013\\_1.pdf](http://www.cmidadhanova.pt/media/76471/Relatorio_PDI_IN_2013_1.pdf).
- Pereira, S. D. (2007). Conceitos e definições da saúde e epidemiologia usados na vigilância sanitária. São Paulo, março de 2007.
- Peres, R. E., Silva, R., & Stangari, R. F. (2009). Tuberculose bovina – relato de caso. *REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA – ISSN: 1679-7353 Ano VII – Número 13 – Julho de 2009 – Periódicos Semestral*.
- Pinto, P., Faria, J., Vilorio, M. and Bevilacqua, P. (2002). Exame microbiológico da tuberculose como subsídio à inspeção, *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* 3 (1):10-15, 2002
- REGULAMENTO (UE) N.º 142/2011 DA COMISSÃO EUROPEIA de 25 de Fevereiro de 2011
- REGULAMENTO (CE) n.º 1069/2009 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO de 21 de Outubro de 2009
- Ribeiro, O., Daveau, S., Gaspar, J., Oliveira, J., Alonso, A., Jacinto, R. e Siza, T. (1997). Orlando Ribeiro e as terras de Idanha. Publicação: Centro Cultural Raiano. Fevereiro 1997.

- Ribeiro, L.; Martins, M.; Fernandez, P. (2013). Aplicação de Métodos de Estatística Espacial na Análise do Padrão da Tuberculose em Bovinos e Ungulados Selvagens, na Beira Interior Sul. *11º Encontro de Utilizadores Esri Portugal*.
- Richomme, C., Boschioli, M., Haris, J., Casabianca, F. and Ducrot, C. (2010). Bovine Tuberculosis in Livestock and Wild Boar on the Mediterranean Island, Corsica. *Journal of Wildlife Diseases*, 46(2): 627-631.
- Richomme, C., Boadella, M., Courcout, A., ..., Boschioli, M. (2013). Exposure of Wild Boar to *Mycobacterium tuberculosis* Complex in France since 2000 Is Consistent with Distribution of Bovine Tuberculosis Outbreaks in Cattle. *PLOS ONE*, Oct 2013, vol 8(10).
- Risco, D., Fernandes-Llario, P., Garcia-Jimenez, W., ..., Mendoza, J. (2013). Influence of Porcine Circovirus Type 2 Infections on Bovine Tuberculosis in Wild Boar Populations. *Transboundary and Emerging Diseases*, 60(1): 121-127.
- Risco, D., Serrano, E., Fernandez-Llario, P., ... Mendoza, J. (2014). Severity of Bovine Tuberculosis Is Associated with Co-Infection with Common Pathogens in Wild Boar, *Plus One* 9(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110123>
- Rodriguez, E., Villarubia, S., Diaz, O., Hernandez, G., Tello, O. (2010). Boletín epidemiológico ESPAÑA. Semanas: 50-51 del 12/12 al 25/12 de 2010. Instituto de Salud Carlos III.
- Rodriguez-campos, S., Boniotti, M. B., Zooprofilattico, I., & Aranaz, A. (2014). Overview and phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* complex organisms: Implications for diagnostics and legislation of bovine, *Research in Veterinary Science*, 97(October), S5–S19. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2014.02.009>
- Rodríguez-prieto, V., Martínez-lópez, B., Barasona, J. Á., Acevedo, P., Romero, B., Rodríguez-campos, S., ... Vicente, J. (2012). A Bayesian approach to study the risk variables for tuberculosis occurrence in domestic and wild ungulates in South Central Spain. *BMC Veterinary Research* 2012, 8:148.
- Roxo, E. (1997). *M. bovis* como causa de Zoonoses. *Rev. Ciênc. Farm.. São Paulo*, 18 101-108(1), 101–108.
- Ryan, T. J., Buddle, B. M., & Lisle, G. W. D. E. (2000). An evaluation of the gamma interferon test for detecting bovine tuberculosis in cattle 8 to 28 days after tuberculin skin testing, *Research in Veterinary Science* 2000, 57–61. <https://doi.org/10.1053/rvsc.2000.0386>
- Sakula, A. (1983). Robert Koch : Centenary of the Discovery of the Tubercle Bacillus, 1882, 127–131.
- Sales, M. P. U., Taylor, G. M., Hughes, S., Yates, M., Hewinson, G., Young, D. B., & Shaw, R. J. (2001). Genetic Diversity among *Mycobacterium bovis* Isolates : a Preliminary Study of Strains from Animal and Human Sources, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, Dec. 2001, 4558–4562. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.12.4558>
- Santic, Z., & Galic, K. (2013). Epidemiology of Tuberculosis During the Period 1703 – 2011: Honoring the World Tuberculosis Day, (May), 291–294. <https://doi.org/10.5455/msm.2013.25.291-294>

- Santos, N., Correia-Neves, M., Ghebremichael, S., Kallenius, G., Svenson, S. and Almeida, V. (2009). Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in wild boar (*Sus scrofa*) from Portugal. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(4): 1048-1061.
- Santos, N., Santos, C., Valente, T., & Gortázar, C. (2015). Widespread Environmental Contamination with Mycobacterium tuberculosis Complex Revealed by a Molecular Detection Protocol, *PLoS ONE* 10(11), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142079>
- Santos, N. (2017). Spatial analysis and modeling of wildlife tuberculosis in a multi-host pathogen system. In X<sup>th</sup> INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON WILD FAUNA. (WAVES-Portugal). 22- 23 September 2017. Vila Real. Portugal.
- Schmitt, S. M., Fitzgerald, S. D., Cooley, T. M., Bruning-Fann, C. S., Sullivan, L., Berry, D., ... Sikarskie, J. (1997). Bovine Tuberculosis in Free-Ranging White-Tailed Deer From Michigan. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(4), 749–758. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-33.4.749>
- Serraino, A., Marchetti, G., Sanguinetti, V., Rossi, M. C., Zanoni, R. G., Catozzi, L., ... Gori, A. (1999). Monitoring of Transmission of Tuberculosis between Wild Boars and Cattle: Genotypical Analysis of Strains by Molecular Epidemiology Techniques, *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 37(9), Sept. 1999, p. 2766–2771, 2766–2771.
- Soolingen, D., Haas, P., Haagsma, J., Eger, T., ..., Embden, J. (1994). Use of Various Genetic Markers in Differentiation of *Mycobacterium bovis* Strains from Animals and Humans and for Studying Epidemiology of Bovine Tuberculosis. *Journal of Clinical Microbiology*, Oct. 1994, Vol. 32. No.10. p. 2425-2433.
- Teixeira, H. C., Abramo, C., & Munk, M. E. (2007). Diagnóstico imunológico da tuberculose: problemas e estratégias para o sucesso, *J Bras Pneumol*. 2007; 33(3), 323–334.
- Thoen, C. O., Lobue, P. A., & Enarson, D. A. (2009). Tuberculosis : a re - emerging disease in animals and humans, *Veterinaria Italiana*, 45 (1), 135-181.
- Trcka, I., Lamka, J., Kopecna, M., Beran, V., Parmova, I., & Pavlik, I. (2006). Mycobacteria in wild boar ( *Sus scrofa* ) in the Czech Republic, *VETERINARSKI ARHIV*, 76, 27–32.
- Val, D., Napp, S., Velarde, R., & Lav, S. (2015). Serological Follow-up of Tuberculosis in a Wild Boar Population in Contact with Infected Cattle. <https://doi.org/10.1111/tbed.12368>
- Vaz, Y. (2017). Panorâmica sobre os dados sanitários relativos às doenças dos planos de erradicação. Palestra nas Jornadas de sanidade animal. 25-26 Maio, Évora 2017, Portugal.
- Velarde, R., Juan, D., Navarro-gonza, N., Mentaberre, G., Romero, B., Domí, L., ... Olive, X. (2014). Long-Term Assessment of Wild Boar Harvesting and Cattle Removal for Bovine Tuberculosis Control in Free Ranging Populations, 9(2), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088824>
- Vicente, J., Icentea, J. V., Öflea, U. H., Arridob, J. M. G., Eraa, I. G. F. E. E., Usteb, R. J., Arralb, M. B., & Ortazara, C. G. (2006). Wild boar and red deer display high

- prevalences of tuberculosis-like lesions in Spain, *Vet. Res.* 37 (2006) 107–119. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Vicente, J., Hofle, U. & Fernandez-de-Mera, I. (2007). Risk factors associated with the prevalence of tuberculosis-like lesions in fenced wild boar and red deer in south central Spain, *Vet. Res.* 38 (2007) 451–464.
- Vicente, J., Barasona, J. A., Acevedo, P., & Boadella, M. (2013). Temporal Trend of Tuberculosis in Wild Ungulates from Mediterranean Spain, *Transboundary and Emerging Diseases*. 60 (Suppl. 1) (2013) 92–103. <https://doi.org/10.1111/tbed.12167>
- Vieira-Pinto, M., Alberto, J., Aranha, J., & Botelho, A. (2011). Combined evaluation of bovine tuberculosis in wild boar ( *Sus scrofa* ) and red deer ( *Cervus elaphus* ) from Central-East Portugal, *Eur J. Wildl Res* (2011) 57:1189–1201. <https://doi.org/10.1007/s10344-011-0532-z>
- Vieira-Pinto M. e Serejo J. (2012). Procedimentos de avaliação sanitária de caça maior. Curso de avaliação sanitária em caça maior, UTAD.
- Vieira-Pinto, M. (2016). Inspeção sanitária em caça maior. Aula proferida na UC de Inspeção Higio-Sanitária II do MIMV da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (27 de abril de 2016).
- WHO (2016). Media centre Tuberculosis, 1–5. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/#>
- WHO. (2017). Be. *GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2016*.
- WILCOX, B. A., & GUBLER, D. J. (2005). Disease Ecology and the Global Emergence of Zoonotic Pathogens. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 10(5), 263–272. <https://doi.org/10.1265/ehpm.10.263>



## 7. ANEXOS

### **ANEXO I - Resumo das atividades realizadas durante o estágio curricular**

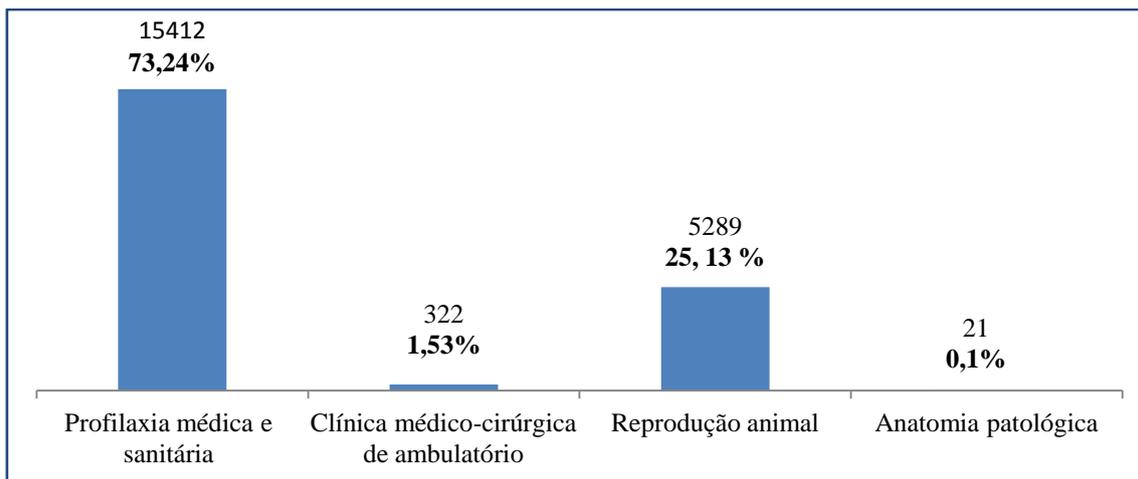
No seguimento do estágio final do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, com duração de 27 semanas (setembro de 2016 a Março de 2017), contactei com diversas temáticas na área de medicina, sanidade e cirurgia de animais de produção e também, inspeção sanitária de caça maior.

A componente de medicina, sanidade e cirurgia de animais de produção foi desenvolvida no Hospital Veterinário Muralha de Évora (HVME).

O HVME está situado na cidade de Évora e é um hospital multidisciplinar, dividindo a sua área de atuação em animais de companhia, animais de produção, animais silvestres e de zoológico e Equimuralha (clínica ambulatória de equinos). O seu trabalho desenvolve-se essencialmente no distrito de Évora, Portugal.

A permanência no HVME permitiu-me acompanhar atividades no âmbito da clínica médico-cirúrgica e sanidade de animais de produção e também, em menor número em animais silvestres e de zoológico.

As atividades desenvolvidas nas 27 semanas no HVME, são divididas em quatro campos de atuação: profilaxia médica e sanitária, clínica médico-cirúrgica de ambulatório, reprodução animal e anatomia patológica. Assim, em seguida, na (Figura 1) são apresentados os números absolutos de animais intervencionados por área de atuação do HVME e respetivas percentagens.



**Figura 1.** Número de animais intervencionados por áreas de atuação e respetiva percentagem.

Em termos absolutos, durante as 27 semanas foram intervencionados 21044 animais, sendo que 15412 animais foram intervencionados durante ações profiláticas, 322 em clínica médico-cirúrgica, 5289 durante ações do âmbito reprodutivo e 21 foram necropsiados (área designada por anatomia patológica).

Como se pode verificar, a área da profilaxia médica e sanitária abrange o maior número de animais, geralmente, grupos selecionados ou todos os animais de um efetivo. Esta atuação tem como objetivo a manutenção de uma população/efetivo saudável, prevenindo maioritariamente doenças infecciosas e parasitárias, melhorando assim, as condições de produção.

Esta área totalizou 15412 animais intervencionados, sendo 5254 bovinos (34,1%), 9898 pequenos ruminantes (64,22%) e 260 suínos (1,68%).

Incluídos na profilaxia médica e sanitária estão incluídos os programas sanitários obrigatórios de erradicação de doenças (como por exemplo, o de da tuberculose bovina e o da brucelose), o programa "Bovicare", os testes de pré-movimentação e os planos profiláticos de cada exploração.

Os programas de erradicação da tuberculose bovina e brucelose (bovinos e pequenos ruminantes) são da responsabilidade dos médicos veterinários. Estes programas estão incluídos no Plano Nacional de Saúde Animal (PNSA) da Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), segundo as diretrizes da União Europeia. Quem faz cumprir o PNSA são os Agrupamento de Defesa Sanitária (ADS), nos quais cada produtor deve estar inscrito obrigatoriamente.

O programa nacional de erradicação da tuberculose bovina terá foco mais à frente neste trabalho, devido ao seu grande interesse na temática desenvolvida nesta dissertação de mestrado.

O programa "Bovicare" é um programa voluntário criado pela Cooperativa Agrícola de Compra e Venda de Montemor-o-Novo (COPRAPEC) com a colaboração da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Este tem como objetivo controlar as doenças bovinas - Rinotraqueíte Infecciosa Bovina (IBR) e Diarreia Viral Bovina (BVD) - nas explorações da região do Alentejo central (Bovicare, 2017). É um programa que está a ser implementado desde 2015, sendo constituído por 4 fases, que ainda estão a ser implementadas em algumas explorações.

Os testes de pré-movimentação (TPM) são testes obrigatórios para despiste de brucelose e tuberculose efetuados em bovinos (machos e fêmeas) com mais de 12 meses de idade, ou com mais de 6 semanas de vida, caso a movimentação seja intercomunitária (COPRAPEC, 2013).

Para despiste de tuberculose a prova de diagnóstico utilizada é a prova da interdermotuberculização comparada (mesma prova utilizada no saneamento anual dos bovinos e programa de erradicação da tuberculose bovina) e para a brucelose é necessário a colheita de sangue para realizar o teste serológico oficial em laboratório, incluindo em conjunto o teste de Rosa de Bengala e o de Fixação de Complemento (*idem, ibidem*). Este procedimento é válido e autoriza a movimentação se realizado nos 30 dias antes do deslocamento dos animais.

Quanto aos planos profiláticos específicos para cada exploração, estes são elaborados pelos médicos veterinários do HVME em parceria com o produtor pecuário. Estes planos incluem as vacinações e desparasitações que se devem realizar mensal, semestral e anualmente, de acordo com as características de manejo, ambiente, doenças instaladas e as suas prevalências na exploração.

Quanto à vacinação mais utilizada em animais de produção, esta é a vacinação contra clostridioses, tanto em bovinos como pequenos ruminantes.

Os bovinos adultos reprodutores e de reposição mais frequentemente são vacinados de 12 em 12 meses (podendo ser também de 6 em 6 meses). Quanto aos jovens, estes podem ser vacinados a partir de 1 mês de idade, e geralmente, aqueles que se destinam a reposição ou a recria e engorda na exploração, voltam a ser vacinados ao desmame.

Os pequenos ruminantes são vacinados anualmente, no momento do saneamento anual; excepto quando existe um surto da doença e como medida preventiva médica se reforça a vacinação.

Quanto à desparasitação em animais de produção, os desparasitantes podem ter aplicação tópica (mais frequentemente *pour-on*) ou injectável. Os desparasitantes mais utilizados são aqueles que têm ação contra nematodes gastrointestinais e pulmonares, piolhos, ácaros da sarna e larvas de muscídeos, no caso dos bovinos; e com ação também, contra trematodes e cestodes, no caso de pequenos ruminantes.

No HVME são acompanhadas, igualmente, explorações de suínos, todas em extensivo, mas num número mais reduzido. Sendo igualmente, utilizados planos de profilaxia específicos para cada uma das explorações.

A clínica médico-cirúrgica de ambulatório no HVME consiste na prática de consultas em campo; não existindo por si só uma atuação/consulta individual a um animal, pois na medicina de animais de produção para tratar um animal não saudável tem que haver uma intervenção em todo o efetivo - o animal é observado como parte integrante de um grupo. É necessário uma abordagem geral do grupo, obtendo informações sanitárias, alimentares e de abeberamento, e aspetos epidemiológicos da região.

Nesta área de atuação, a casuística foi variada e depreende-se desde o diagnóstico e resolução de retenções placentárias, partos distócicos, diarreia neonatal, pneumonias, timpanismos, abscessos, até à área cirúrgica, como cesarianas e sutura de lacerações.

Nesta área de atuação, é também, de considerar o diagnóstico de diversas doenças infecciosas e parasitárias, como a Piroplasmose Bovina, a Paratuberculose, a Queratoconjuntivite infecciosa Bovina, Besnoitiose e a pieira dos pequenos ruminantes.

No HVME existe um Núcleo de Reprodução e Fertilidade, que essencialmente presta apoio reprodutivo às explorações da região. Este tem como objetivo, o aumento da fertilidade, despiste de problemas reprodutivos e o aumento do valor genético do efetivo das explorações de forma a aumentar a sua produtividade e rentabilidade.

Em termos reprodutivos, a ação com maior número de animais intervencionados foi o controlo reprodutivo de fêmeas, onde há a possibilidade de se efetuar um diagnóstico de gestação precoce. O meio de diagnóstico que se utiliza para o diagnóstico de gestação é a ecografia - transretal para os bovinos e transparietal para os pequenos ruminantes. A ecografia transretal dos bovinos, é por vezes, também utilizada

como meio de diagnóstico de doenças reprodutivas, pois permite a avaliação de todo o trato reprodutivo.

Além do controlo reprodutivo de fêmeas, realizam-se exames andrológicos a machos e inseminação artificial de fêmeas.

Os exames andrológicos a carneiros e touros são realizados antes destes serem colocados à cobrição ou no exame de ato de compra.

Para se proceder à inseminação artificial, usualmente, utiliza-se anteriormente, um protocolo de sincronização de cio e insemina-se no dia previsto da ovulação. Há uma grande diversidade de protocolos de sincronização de cio e o utilizado deve ser o mais adaptado ao resultado do exame ecográfico reprodutivo das fêmeas da exploração onde se vai realizar.

A necrópsia é uma forma de grande valor diagnóstico *post-mortem*, pois permite a observação de lesões que em vida não são visíveis, permitindo um diagnóstico e uma possível intervenção no efetivo caso se justifique.

No estágio no HVME, foram realizadas 21 necrópsias, todas em campo, em que se realça uma realizada a um touro, onde foram encontradas lesões compatíveis com necrobacilose hepática e outra a um elande com lesões compatíveis com insuficiência cardíaca congestiva.

No âmbito da área de intervenção em animais silvestres, foi realizada a inspeção sanitária das peças de caça maior de uma montaria.

Paralelamente ao estágio realizado no Hospital Veterinário Muralha de Évora, tive a oportunidade de acompanhar o Veterinário Municipal de Idanha-a-Nova, Dr. João Serejo, em diversos atos de inspeção sanitária em caça maior. Durante a época venatória 2016/17, auxiliei na inspeção sanitária *post-mortem* de caça maior em 5 montarias.

O interesse na área de medicina de efetivos de bovinos em extensivo e simultaneamente na da inspeção sanitária de caça maior e a problemática da transmissão de doenças na interface: bovinos e caça maior motivou a escolha do tema apresentado nesta dissertação de mestrado.

## Anexo II

Montarias								
Trazer mapa da mancha								
Total de animais caçados:								
Nome da zona da caça								
→Nº Veados								
→Nº Javalis								
Animais com alterações:	Javali	Veado	Tb	Tb pulmonar	Tb digestiva	Tb dispersa (sistêmica)	Tipo de lesão: (caseosa / purulenta)	Outras Alterações (ex: parasitismos, nefrite, pericardites...)
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
...								
Total afetados:								
Eliminação de subprodutos: Enterramento (0); UTS (1)								

## Anexo III

Charcas e pântanos					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Menor ou igual a 20m de diâmetro	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidências de uso pela fauna silvestre;</li> <li>- Está cercado (e este, está e, bom estado de conservação);</li> <li>- Impede que a fauna silvestre e os bovinos acedam à charca.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ainda que não haja evidência de uso pela fauna silvestre, o sistema de proteção frente à fauna silvestre não é suficiente;</li> <li>- Os bovinos não podem aceder-lhe, mas outras espécies domésticas suscetíveis podem.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há escassa evidência de uso pela fauna silvestre;</li> <li>- Existe pedra em vez de terra na sua base;</li> <li>- O seu período de secagem é muito curto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidências da presença de fauna silvestre ou senão há, a charca mede &lt;10m de diâmetro;</li> <li>- Presença de terra /lama e acesso por parte de outras espécies domésticas suscetíveis;</li> <li>- Permanece com tamanho reduzido desde o início da época quente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Moderadas ou elevadas evidências de presença de fauna silvestre;</li> <li>- Ponto de água com &lt; 10m de diâmetro com grande quantidade de terra/lama;</li> <li>- Possível acesso de outras espécies suscetíveis além de bovinos;</li> <li>- Não exposta ao sol;</li> <li>- Aguenta toda a época seca com dimensões muito reduzidas.</li> </ul>
Maior de 20m de diâmetro	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande tamanho e largo perímetro de onde os animais podem beber;</li> <li>- Ausência de barrizais e rastros de fauna silvestre;</li> <li>- Presença de um cercado que exclui os bovinos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande tamanho;</li> <li>- Ausência de grandes barrizais e de rastros de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pouca evidência de presença de fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de grandes barrizais.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Presença de rastros de fauna silvestre;</li> <li>- Barrizal em zonas de acesso concreto e muito transitadas por bovinos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grandes barrizais muito utilizados tanto pela fauna silvestre como pelos bovinos em zonas concretas.</li> </ul>

Bebedouros					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Menor de 1,20m de altura	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Possui base de cimento e não há humidade ao seu redor;</li> <li>- Não podem aceder os bovinos, mas outras espécies suscetíveis sim;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Possui base de cimento e não há humidade ao seu redor;</li> <li>- Ainda que os bovinos tenham outra fonte de abeberamento alternativa, podem aceder a este ponto;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sem evidência de presença de fauna silvestre, mas sem base de cimento;</li> <li>- Não há humidade na sua base;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidente uso deste ponto por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento, mas sem humidade ao seu redor;</li> <li>- Possível sujidade dentro do bebedouro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidente uso deste ponto por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento e existência de humidade ou lama no solo ao redor;</li> <li>- Detritos dentro do bebedouro.</li> </ul>
Maior ou igual a 1,20m de altura	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Possui base de cimento e não há humidade ao seu redor;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso por parte da fauna silvestre, mas sem base de cimento;</li> <li>- Ou</li> <li>- Evidências de uso por parte da fauna silvestre, mas com base de cimento;</li> <li>- Não há humidade ao seu redor;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evidências de uso por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento, mas sem humidade ao seu redor;</li> <li>- Possível sujidade dentro do bebedouro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidente uso deste ponto por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento e existência de humidade ou lama no solo ao redor;</li> <li>- Detritos dentro do bebedouro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há presença de sinais de uso tanto pela fauna silvestre como pelos bovinos;</li> <li>- Ausência de base de cimento e grande quantidade de água e lama no solo ao redor;</li> <li>- Grande quantidade de detritos dentro do bebedouro.</li> </ul>

Pontos de alimentação					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Solo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Administração pontual uma dose pertinente de alimento para que este seja rapidamente consumido pelos bovinos;</li> <li>- Dentro de um cercado não acessível a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Administração pontual uma dose pertinente de alimento para que este seja rapidamente consumido pelos bovinos;</li> <li>- Acessível à fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resta alimento no solo, quando os bovinos acabam de se alimentar;</li> <li>- Sem presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resta alimento no solo, quando os bovinos acabam de se alimentar;</li> <li>- Avistamento esporádico de fauna silvestre na área.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Resta alimento no solo, quando os bovinos acabam de se alimentar;</li> <li>- Uso evidente por parte da fauna silvestre.</li> </ul>
Comedouro	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mais de 1,20m de altura;</li> <li>- Não cai alimento no solo;</li> <li>- Sem evidências de presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mais de 1,20m de altura;</li> <li>- Cai alimento no solo;</li> <li>- Sem evidências de presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mais de 1,20m de altura;</li> <li>- Cai alimento no solo;</li> <li>- Evidências de presença de fauna silvestre.</li> <li>- Ou</li> <li>- Menos de 1,20m de altura e sem presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menos de 1,20m de altura;</li> <li>- Avistamento esporádico de fauna silvestre na área.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Menos de 1,20m de altura;</li> <li>- Uso evidente por parte da fauna silvestre.</li> </ul>

Rios e ribeiros				
Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande caudal que se mantém constante todo o ano sem parar, sem formar charcas, poças ou pântanos;</li> <li>- Sem uso evidente por parte da fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Curso de água temporal que se seca na época quente, sem se manter parado durante um longo período de tempo e sem formar charcas ou poças onde os animais bebam.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sem presença de fauna silvestre;</li> <li>- Curso de água temporal ou permanente, com corrente de água lenta que forma pontos de abeberamento habitual por parte dos bovinos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Com presença de fauna silvestre (rastros ou avistamento);</li> <li>- Curso de água temporal ou permanente que alberga charcas ou poças com presença de lama;</li> <li>- Utilizadas pela fauna silvestre e pelos bovinos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Com presença de fauna silvestre (rastros ou avistamento);</li> <li>- Curso de água temporal ou permanente que seca durante a época seca mas deixa pontos de água de reduzido tamanho e grande quantidade de lama;</li> <li>- Utilizadas intensamente pela fauna silvestre e bovinos.</li> </ul>

Estruturas e armazenamento do alimento					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Armazém	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nave cerrada;</li> <li>- Ou</li> <li>- Alimento em sacos ou sobre paletes;</li> <li>- Ou</li> <li>- Silo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nave aberta;</li> <li>- Nave com cercado exterior em boas condições;</li> <li>- Alimento coberto;</li> <li>- Sem presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nave com cercado exterior em más condições de conservação e indícios de passagem de fauna silvestre pelo cercado;</li> <li>- Alimento descoberto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nave com cercado exterior em más condições de conservação;</li> <li>- Indícios de uso de alimento pela fauna silvestre;</li> <li>- Alimento descoberto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nave com cercado exterior em más condições de conservação;</li> <li>- Indícios de uso de alimento pela fauna silvestre;</li> <li>- Alimento descoberto;</li> <li>- Presença de humidade, água ou lama.</li> </ul>
Estruturas de manejo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura limpa, onde os animais não permanecem muito tempo;</li> <li>- Com cercado que exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura limpa, onde os animais não permanecem muito tempo;</li> <li>- Sem cercado que exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura limpa, onde os animais permanecem algum tempo (até dias);</li> <li>- Sem cercado que exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura suja e com detritos de alimento na área, onde os animais permanecem algum tempo (até dias);</li> <li>- Sem cercado que exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura suja e com detritos de alimento na área, onde os animais permanecem algum tempo (até dias);</li> <li>- Sem cercado que exclui a fauna silvestre;</li> <li>- Presença de humidade, água ou lama.</li> </ul>

## Anexo IV

PONTOS DE ÁGUA					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
CHARCAS E PÂNTANOS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande tamanho e largo perímetro de onde os animais podem beber;</li> <li>- Está cercado (e este, está e, bom estado de conservação);</li> <li>- Ausência de barrizais e rastros de fauna silvestre;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grande tamanho e largo perímetro de onde os animais podem beber;</li> <li>- Ainda que não haja evidência de uso pela fauna silvestre, o sistema de proteção frente à fauna silvestre não é suficiente;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há escassa evidência de uso pela fauna silvestre;</li> <li>- Existe pedra em vez de terra na sua base;</li> <li>- O seu período de secagem é muito curto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidências da presença de fauna silvestre ou senão há, a charca mede &lt;10m de diâmetro;</li> <li>- Presença de terra /lama nos barrizais;</li> <li>- Permanece com tamanho reduzido desde o início da época quente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Marcadas evidências de presença de fauna silvestre;</li> <li>- Ponto de água com &lt; 10m de diâmetro com grande quantidade de terra/lama;</li> <li>- Não exposta ao sol;</li> <li>- Aguenta toda a época seca com dimensões muito reduzidas.</li> </ul>
BEBEDOUROS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso frequente por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Possui base de cimento e não há humidade ao seu redor;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não há evidência de uso frequente por parte da fauna silvestre, mas sem base de cimento;</li> <li>- Bom estado de conservação e limpeza.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Evidências de uso por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento, mas sem humidade ao seu redor;</li> <li>- Possível sujidade dentro do bebedouro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há evidente uso deste ponto por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Ausência de base de cimento e existência de humidade ou lama no solo ao redor;</li> <li>- Detritos dentro do bebedouro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Há presença de sinais de uso tanto pela fauna silvestre como pelos bovinos;</li> <li>- Ausência de base de cimento e grande quantidade de água e lama no solo ao redor;</li> <li>- Grande quantidade de detritos dentro do bebedouro.</li> </ul>

Pontos de alimentação					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Sementeiras	Dentro de um cercado cinegético não acessível a fauna silvestre.	Dentro de um cercado, mas acessível à fauna silvestre.	Sem cercado, mas sem presença de fauna silvestre.	Avistamento esporádico de fauna silvestre na área.	Uso evidente por parte da fauna silvestre.
Cevadouros de caça maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não cai alimento no solo;</li> <li>- Sem evidências de presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Não cai alimento no solo;</li> <li>- Uso raro por parte da fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cai alimento no solo;</li> <li>- Evidências de presença de fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cai alimento no solo;</li> <li>- Uso evidente por parte de fauna silvestre na área.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cai muito alimento no solo;</li> <li>- Uso evidente por parte da fauna silvestre (especialmente mais que uma espécie).</li> </ul>

Estruturas de apoio					
Tipologia	Risco 1	Risco 2	Risco 3	Risco 4	Risco 5
Estruturas de manejo	- Com cercado cinegético que exclui a fauna silvestre.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura limpa;</li> <li>- Com cercado mas que não exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura limpa;</li> <li>- Sem cercado que exclui a fauna silvestre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura suja e com detritos de alimento e lama na área;</li> <li>- Uso da área por parte da fauna silvestre;</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estrutura suja;</li> <li>- Uso da área por parte da fauna silvestre;</li> <li>- Presença de humidade, água ou lama.</li> </ul>