

Arminda da Glória António Sibanda Cumbane

**Estudo Epidemiológico de Casos Positivos a Tuberculose Bovina no Matadouro Municipal de
Maputo**

Licenciatura em Agro-pecuária com Habilitações em Ensino

Universidade Pedagógica

Maputo

2022

Arminda da Glória António Sibanda Cumbane

**Estudo Epidemiológico de Casos Positivos a Tuberculose Bovina no Matadouro Municipal de
Maputo**

Trabalho de Monografia Científica a ser apresentado à Direcção do Curso de Ciências Agro-Pecuária da Faculdade de Engenharias e Tecnologias da Universidade Pedagógica de Maputo, para obtenção do grau de Licenciatura em Ensino de Agro-Pecuária.

Supervisor:

Mestre Manuel Bata

Universidade Pedagógica

Maputo

2022

Índice

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
DECLARAÇÃO DE HONRA	vi
DEDICATÓRIA	vii
AGRADECIMENTOS.....	viii
RESUMO	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Problema e Sua Justificativa	2
1.2. Objectivos	3
1.2.1. Geral	3
1.2.2. Específicos	3
1.3. Hipóteses.....	3
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Agente Causador da Tuberculose bovina	4
2.2. Caracterização Epidemiológico e Económica da Tuberculose bovina.....	4
2.3. Transmissão da Tuberculose bovina	6
2.4. Patogenia.....	8
2.5. Sintomatologia Clínica	9
2.6. Tuberculose Zoonótica	9
2.7. Impacto Económico da Tuberculose bovina.....	10
2.8. Métodos de diagnóstico da Tuberculose bovina	11
2.8.1. Diagnóstico Clínico.....	11
2.8.2. Diagnóstico Alérgico-cutâneo	12
2.8.3. Diagnóstico Bacteriológico	13
2.8.4. INSPENSÃO NO MATADOURO.....	14
2.8.4.1. Inspensão Poste-mortem/ exame macroscópico.....	14

2.8.5.	Diagnóstico Histopatológico	16
2.8.6.	Diagnóstico Sorológico	17
2.8.7.	Diagnóstico molecular	18
2.9.	Controlo e Profilaxia	20
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1.	Caracterização da Área de Estudo.....	22
3.2.	Procedimentos metodológicos	22
3.3.	Análise de dados.....	23
3.3.1.	Identificação de lesões sugestivas a Tuberculose bovina em carcaças de bovinos abatidos no Matadouro Municipal de Maputo.....	23
3.3.2.	Mapeamento da ocorrência da tuberculose bovina em função da proveniência dos animais.....	23
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1.	Exame Macroscópico de lesões sugestivas da Tuberculose bovina em Carcaças de Bovinos abatidos no matadouro municipal de Maputo.....	25
4.2.	Mapeamento da prevalência da Tuberculose bovina em função da Proveniência dos animais a partir de exame Histopatológico	28
5.	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	33
5.1.	Conclusões	33
5.2.	Recomendações.....	33
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
	Apêndices	43
	ANEXOS.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Primers que são usados no TB multiplex PCR e tamanho esperado para identificação do gênero <i>Mycobacterium</i> e complexos MTBC e MAI. (Fonte: WILTON; COUSIN,1992).....	20
Tabela 2. Primers que são usados na diferenciação dos membros do MTBC e o tamanho esperado. (Fonte: WARREN <i>et al.</i> , 2006).....	21
Tabela 3. Prevalência das Lesões sugestivas da Tuberculose Bovina em carcaças de Bovinos Abatidos no Matadouro Municipal de Maputo.....	28
Tabela 4. Prevalência da Tuberculose Bovina em função da proveniência dos animais a partir de exame histopatológico.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS

bTB	Tuberculose bovina
DNA	Ácido Disoxirribonucleico
ELISA	Enzyme-lynked imunnosorbent assay
HE	Hematoxilina Eosina
M.bovis	<i>Mycobacterium bovis</i>
OIE	World Organization for Animal Health
PCR	Reação em cadeia de Polimerase
PPD	Derivado Proteico Purificado
PNCEBT	Programa Nacional de Controlo e Erradicação da Brucelose e Tuberculose
RD	Repetição Directa
rRNA	ácido Ribonucleico Ribossómico
SCITT	Single Intradermal Comparative Tuberculin Test

DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Arminda da Gloria António Sibanda Cumbane, declaro por minha honra que o trabalho intitulado “*Estudo Epidemiológico de Casos Positivos a Tuberculose Bovina no Matadouro Municipal de Maputo*” é da minha autoria sob orientação do meu supervisor. Declaro ainda que o mesmo nunca foi apresentado em nenhuma outra Instituição para a obtenção de qualquer grau académico que não seja para a minha candidatura ao grau de Licenciatura em Agro-pecuária com a Habilitação em Ensino na Faculdade de Engenharias e Tecnologias, da Universidade Pedagógica de Maputo.

Maputo, Dezembro de 2022

(Arminda da Glória António Sibanda Cumbane)

DEDICATÓRIA

À toda minha família, em especial aos meus estimados Pais, António Sibanda e Avelina Sibanda, que sempre me estimularam a dar este grande passo. Ao meu esposo Francisco Cumbane e as minhas filhas Beatriz, Sheizy, Greta e Tayra que estiveram sempre ao meu lado me encorajando em todos momentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, pela sua infinita bondade, e preservação da vida, permitindo que tudo que já alcancei fosse de acordo com a sua bondade;

À toda a família, especialmente aos meus pais António Sibanda e Avelina Sibanda, vai a minha grandiosa gratidão, pela incansável educação concedida, e pelo acolhimento das todas preocupações pessoais em todas as fases da minha formação académicas;

Ao Supervisor Mestre Manuel Bata, pelo apoio concedido em todas as fases da realização do trabalho, pela dedicação, compreensão e motivação prestada;

À Direcção do Matadouro Municipal de Maputo, especialmente ao Sr. Miranda, pelo apoio prestado durante a colheita de dados;

Aos docentes do Curso de Ciências Agro-pecuárias da Faculdade de Engenharias e Tecnologias da UP-Maputo, pela transmissão amável de conhecimento, vai a minha imensa gratidão;

E não deixando de manifestar os especiais agradecimentos a todos colegas da turma de 2012, ano que com muita ansiedade ingressei na faculdade, pelo companheirismo, amizade e solidariedade que sempre fizeram durante a formação académica até hoje;

A todos que directa ou indirectamente contribuíram na realização do trabalho, vai o meu

“Muito Obrigado”

RESUMO

A tuberculose bovina é uma doença de carácter zoonótica que está entre as principais doenças responsáveis pela condenação de carcaças nos matadouros. Foi feito um estudo no período de 27 de Julho a 02 de Setembro de 2021, com objectivo de analisar a prevalência da tuberculose bovina em carcaças de bovinos abatidos no matadouro municipal de Maputo. Para o efeito, foram abatidos 1255 animais de diferentes faixas etárias, de ambos sexos, provenientes das 4 quatro distritos regiões da província de Maputo, nomeadamente Magude, Moamba, Namaancha e Matutuine. Foram seleccionados aleatoriamente 600 animais e inspeccionados linfonodos mandibulares, submandibulares, pulmonares, mediastínicos, pre-escapulares, popliteos e mesentéricos e colhida amostras para o exame histopatológico. Na inspecção 290 (48.3%) carcaças lesões sugestivas da tuberculose bovina e 310(51.7%) inconclusivos. A maior parte das lesões foram registadas nos linfonodos mediastínicos 144(4.3%), seguido do pulmão 76(12.7%), Fígado 42(7.1%) e nove 9 (1.5%) carcaças apresentaram quadro de tuberculose generalizada. Os resultados do exame histopatológico mostrou elevado índice da doença nos distritos de Magude e Moamba com 41(28.9%) e 64 (22.6%) respectivamente, em relação aos distritos de Namaancha e Matutuine que obtiveram 10(12.4%) e 11(12.2%) respectivamente. A associação significativa foi observada com relação à proveniência e a idade. Os resultados do presente estudo fornecem uma valiosa contribuição da situação epidemiológica da tuberculose bovina na província de Maputo.

Palavras-chave: Matadouro, Inspeção sanitária, distribuição, prevalência, lesões tuberculosas, carcaça.

1. INTRODUÇÃO

A tuberculose bovina (bTB) é uma doença infecto-contagiosa crônica, causada por *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*) (MARTINS *et al.*, 2008; RODRIGUES *et al.*, 2020). É transmitida principalmente por via aerógena, afectando primariamente o sistema respiratório e progressivamente o sistema linfático, digestivo e ósseo, formando granulomas nodulares ou tubérculos (RODRIGUES *et al.*, 2020). Para além de elevados prejuízos económicos, caracterizados pela redução de produção de carne, leite e exclusão da exportação de carne e subproductos (ACHA *et al.*, 2003), é uma importante zoonose (MARTINS *et al.*, 2008), facto que se torna imprescindível a inspecção destes produtos e subproductos, por forma a garantir que os mesmos cheguem ao consumidor em condições higiénico-sanitário e qualidade desejada (SANTA CATARINA, 2020).

A doença encontra-se distribuída mundialmente, sobretudo na América Latina (USABIAGA, 2001). Em África, destaca-se Zimbabwe, Botswana, Congo, Madagáscar, África do sul, Angola, Nigéria incluindo Moçambique (TUNNER *et al.*, 2014), uma vez que a maioria dos produtores adopta o sistema extensivo de produção, que influencia no elevado contacto e disseminação da doença (MARTINS *et al.*, 2008; MEDEIRO *et al.*, 2009). Clinicamente a doença é inaparente, embora os animais inoculem o agente para o ambiente, passam a sua vida produtiva sem sintomatologia evidente (ACHA *et al.*, 2003).

Segundo FAO (2018) em Moçambique, as perdas económicas resultantes da bTB são estimadas entre 10% e 25%, caracterizadas por morte, redução dos índices zootécnicos como fertilidade, conversão alimentar, ganho de peso, taxa de produção de leite, incluindo a condenação de carcaças durante na inspecção sanitária. Por forma a minimizar os impactos negativos das doenças, o Ministério da Agricultura e Desenvolvimento Rural, tem impulsionado estratégias de controlo, desde o rastreio de doenças, mapeamento dos principais focos e inspecção sanitária nos matadouros e casa de abate, assim como análise sistemática da sua prevalência.

Embora seja imprescindível o conhecimento da situação da doença, em Moçambique, a caracterização epidemiológica da bTB ainda é pouco conhecida e os matadouros jogam um papel importante na obtenção de informação acerca da bTB, uma vez que a carne fresca proporciona ao *M. bovis* meio ideal para a sua multiplicação, pois dispõe de nutrientes, água e pH moderado favorável, facto que é minimizado durante a inspecção, pois possibilita a identificação e exclusão da linha de abate animais doentes, identificação de carcaças com

bTB e seu descarte (ADAMS *et al.*, 2002; URQUHART *et al.*, 2014). Para além disso, os casos tidos como positivo nos matadouros, são usados para mapear a distribuição da doença em diferentes zonas de origem (MACHADO, 2015).

1.1. Problema e Sua Justificativa

O Matadouro Municipal de Maputo é um centro de referência na Cidade de Maputo no que tange ao abate, inspecção e desossa de carcaças bovinas, uma vez que abate animais provenientes de diversas regiões do país. Na região sul, a Província de Maputo ocupa a primeira posição, sendo os distritos de Magude, Moamba, Namaacha, e Matutuine os que mais contribuem no fornecimento de animais, estimando-se em 8346, 10578, 14792 e 16324 cabeças de gado bovino, respectivamente (VIEGAS *et al.*, 2010).

Apesar da fraca informação acerca da doença, estudos de WHO *et al.*, (2017) reportaram uma prevalência de 48% de bTB, que para INLAMEA (2018), é considerada muito alta e com tendência progressiva, uma vez que cada 100 carcaças testadas através dos métodos de rastreio intradérmico com recurso a tuberculinização, em média cerca de 26 casos testaram positivo. Estudos de MACUCULE (2009) reportaram a TB como sendo uma das principais doenças responsável por perdas económicas na cadeia de produção bovina, resultante de rejeição de carcaças no matadouro e limitações ao comércio intracomunitária. MANFRED *et al.*, (2014); MOIANE *et al.*, (2014), MACHADO (2015), reportaram impactos negativos da doença na saúde pública em alguns distritos, com maior enfoque para o distrito de Govuro, com uma taxa de prevalência muito alta, estimada em 39,6%.

Face aos grandes impactos negativos da doença nos índices zootécnicos, é um dos factores que concorre com que a produção bovina em Moçambique seja baixa, facto que resulta com que cerca de 30-40% da carne bovina consumida na Cidade e Província de Maputo seja importada dos países vizinhos como Africa do Sul e Reino de Eswatini (MOIANE *et al.*, 2014), visto que cumprem com as boas emanadas pela OMS em toda a cadeia de produção, abate, processamento, conservação, incluindo a certificação. Contrariamente, ao nível nacional, a carne é fornecida por pequenos produtores, que geralmente adoptam sistema de criação extensiva, caracterizada por pastagens comunais, convivência mútua com os animais, o que aumenta o risco de contaminação doenças como é o caso da bTB (MUCAVELE, 2008).

Face a fraca caracterização epidemiológica da bTB em Moçambique, instigou ao seguinte questionamento: Qual é a situação epidemiológica da TB na província de Maputo? Desta forma, o presente estudo objectivou caracterizar a epidemiologia da doença, determinando a

sua prevalência e a distribuição da doença nas diferentes zonas de origem na província de Maputo, com recurso aos dados colhidos no Matadouro Municipal de Maputo.

É nesta vertente que o presente estudo objectivou caracterizar a situação epidemiológica da TB a partir de carcaças de bovinos abatidos no Matadouro Municipal de Maputo. O estudo é essencial pois permitirá caracterizar a prevalência da doença em função da idade, sexo e proveniência, o que auxiliará aos futuros estudos. Os resultados do estudo também auxiliarão às instituições competentes na definição das melhores estratégias e o monitoramento da eficácia da implementação dessas medidas.

1.2. Objectivos

1.2.1. Geral

- ✓ Avaliar a Prevalência da Tuberculose Bovina em Carcaças abatidas no Matadouro Municipal de Maputo.

1.2.2. Específicos

- ✓ Identificar as lesões sugestivas da bTB em carcaças de Bovinos abatidos no Matadouro Municipal de Maputo;
- ✓ Mapear a ocorrência da Tuberculose Bovina nos Distritos da Província de Maputo

1.3. Hipóteses

H₁: Existe diferenciação nas carcaças de bovinos abatidos no Matadouro Municipal de Maputo quanto ao acometimento pela Tuberculose Bovina;

H₂: Os distritos da Província de Maputo apresentam uma taxa diferenciada da prevalência da Tuberculose Bovina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Agente Causador da Tuberculose bovina

A tuberculose é causada por bacilos imóveis, não esporulados, aeróbios, não capsulados e não flagelados, medindo de 0,3 a 0,6 µm de largura por 1 a 4µm de comprimento. As microbactérias que causam tuberculose em mamíferos pertencem à classe Actinobactéria, Ordem *Actinomycetales*, Família *Mycobacteriaceae*, Género *Mycobacterium* e fazem parte do complexo *Mycobacterium tuberculosis* um grupo de espécies – *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium africanum* (componentes clássicos), *Mycobacterium canetti*, *Mycobacterium caprae* e *Mycobacterium pinnipeddi* responsáveis por infecção em diferentes mamíferos (SMITH *et al.*, 2006).

Algumas microbactérias excepto as do complexo M. Tuberculosis, denominadas de MOOT (Mycobacteria other than tubercle bacilli), também chamadas de microbactérias “ atípicas”, “ anónimas”, “não classificadas”, “saprófitas”, “oportunistas”, “não tuberculosas”, e actualmente, “ambientais”. Essas microbactérias estão divididas em potencialmente patogénicas ou não patogénicas para o homem. Entre as potencialmente patogénicas, destaca-se o M. avium, pertencente ao complexo M.avium, MAC ou MAIS, se a estirpe M. Scrofulaceum estiver incluída (HAAGSMA, 2011; KONEMAN *et al.*, 2014).

As microbactérias assim como bactérias dos géneros *Corynebacterium*, *Nocardia* e *Rhodococcus*, são bacilos álcool-ácido resistentes (BAAR), isto é, quando corados pela fuccina a quente resistem a descoloração com álcool-ácido-coloração de Ziehl-Neelsen (EISENSTADT *et al.*, 2015; ROXO, 2016).

2.2. Caracterização Epidemiológica e Económica da Tuberculose bovina

A tuberculose bovina possui distribuição mundial, mas a sua prevalência é maior em países em desenvolvimento onde o conhecimento da epidemiologia da doença e as acções concretas para o seu controlo são limitadas (REVIRIEGO *et al.*, 2006).

A bTB é uma doença de grande importância sócio-económica afectando a produção pecuária, a vida selvagem, o comércio internacional e a saúde pública. Na pecuária há uma redução da produtividade, com prejuízos de 10 a 25% na produção leiteira, descarte precoce dos animais, redução de crescimento, baixa condição corporal, eliminação de animais de alto valor zootécnico morte de animais, reprovação de carcaças no abate (LAGE *et al.*, 2006; MUNYEME *et al.*, 2010; KATALE *et al.*, 2013), e embargos no comércio internacional de

produtos animais (MEDEIROS *et al.*, 2010). Na vida selvagem a infecção por *M.bovis* tem sido detectado em várias espécies selvagens, incluindo as espécies ameaçados de extinção podendo causar consequências graves ao ecossistema com reflexos negativos na conservação e turismo (MICHEL *et al.*, 2010). Na saúde pública, a doença tem potencial zoonótico, constituindo perigo para a saúde pública, especialmente em países sem medidas efectivas de controlo da tuberculose bovina (MICHEL *et al.*, 2010).

Em geral, os membros do MTBC são caracterizados por baixa especificidade ao hospedeiros e, particularmente *M.bovis*, agente causal da bTB, possui uma das maiores variedades de hospedeiros entre os agentes patogénicos conhecidos (BROSCH *et al.*, 2012). Esta característica de *M.bovis* contribui para a visão de que o controle da tuberculose em bovinos não será alcançado se os reservatórios selvagens não forem incluídos na dinâmica da doença (O REILLY *et al.*, 2015).

Os animais selvagens que servem como reservatórios da bTB, constituem riscos potenciais para a infecção de animais domésticos nas áreas onde existe contto entre as espécies (COSIVI *et al.*, 2015, COSIVI *et al.*, 2018). Diferentes espécies não são igualmente susceptíveis à doença e a manutenção em área específica envolvem interacções epidemiológicas entre animais domésticos, fauna selvagem e humana (MUCAVELE, 2008; OIE, 2009).

A infecção pode ocorrer pela ingestão de leite ou pasto contaminado e causa lesões nos linfodos mesentéricos e por via respiratório com envolvimento dos pulmões e linfonodos associados com possível disseminação para outros órgãos (THOEN, 2010). O frequente envolvimento dos pulmões e dos linfonodos associados indicam que a via respiratória é a mais importante no processo de transmissão (CORNER, 2014).

A introdução de um animal infectado numa região livre ou contacto com rebanho constituem fontes de infecção, e o movimento descontrolado de animais infectados facilita a disseminação de bTB (MORRIS *et al.*, 2007; BROOKS *et al.*, 2009; SKUCE *et al.*, 2012). A transmissão entre animais principalmente, aerógena, pelo contacto próximo entre animais por via aerossóis, partilha de alimentos entre animais infectados e não infectados são os principais factores de risco para a transmissão de bTB. Por sua vez, animais criados em áreas livres a presentaram menor risco em relação aos confinados (CLESVEIAND *et al.*, 2011; AMENI *et al.*, 2017).

A Tuberculose bovina é uma doença prevalente em Moçambique. Não se conhece a origem da tuberculose bovina em Moçambique, mas acredita-se a introdução de raças importadas

pode ter sido a principal fonte da introdução da doença, principalmente na região sul (MACHADO, 2015).

A criação dos serviços veterinários em Moçambique é do início do século passado (MENDES, 2004). Embora já houvesse relatos de doenças bacterianas, incluindo a tuberculose bovina, essas sempre tiveram carácter organizacional desenhado para as doenças transmitidas por vectores. Tal pressuposto serve e serviu de entrave para o controlo de bTB nos atuais serviços de veterinária. Segundo MACHADO (2015), a ocorrência da tuberculose bovina foi reportada apenas em 1940 resultante da inspecção post mortem de carnes. Assim os abatedouros são uma importante fonte de informação epidemiologia com a possibilidade de encontrar casos de bTB.

Não se conhece estimativas da prevalência da tuberculose bovina em Moçambique (MOIANE et al., 2014). Portanto, os relatórios anuais dos serviços veterinários apresentam dados pouco precisos sobre a prevalência (tanto no campo como nos matadouros) da bTB no país. Utilizando-se de história de casos da bTB reportada pelos serviços oficiais. MACHADO (2015) realizou estudo de prevalência usando SCITT nas regiões com alta ocorrência bTB e, considerando a representatividade territorial, foram incluídos os distritos de sul (Manhiça, Chibuto), centro (Buzi, Mutarara e Gondola). E norte (Macanhelas, Mogovolos e Angoche). A prevalência foi estimada em 14,7% (478/3925) nesses oito distritos. Em geral, a prevalência de bTB em Moçambique não é uniforme (MACHADO, 2015). Por outro lado, não se sabe ao certo a contribuição da fauna selvagem na prevalência da bTB. Num estudo realizado por TUNNER et al, (2014), a prevalência da bTB em Búfalos foi de 8% (5/62) usando o teste rápido stat pak no parquet transfronteiriço do grande Limpopo. Tanto o parque nacional do Kruguer na África do sul, bem como o Gonerezhou no Zimbabwe, já relatou casos de bTB em bovinos e animais selvagens (RODWELL et al., 2011; DE GARINE-WICHATITSK et al., 2010; GOMO, 2011). No entanto, no distrito de Massingir, adjacente ao parque a prevalência foi estimada 0,98% (TANNER *et al.*, 2014).

2.3. Transmissão da Tuberculose bovina

A transmissão da tuberculose bovina pode ser influenciada por diversos factores, tais como idade, comportamento animal, ambiente, clima e práticas de manejo (NEILL *et al.*, 2010). A principal fonte de infecção para os rebanhos é o bovino infectado, sendo que a aquisição de

animais infectados sem o conhecimento da situação sanitária que os mesmos se encontram, é a mais importante forma de introdução da tuberculose bovina (MACHADO, 2015).

Várias espécies da fauna silvestre estão relacionadas à manutenção e transmissão de *M. bovis* em todo mundo. Os reservatórios de fauna silvestre podem dispersar o bacilo tuberculoso por uma variedade de vias como secreções respiratórias, urina ou fezes, sendo que a via de transmissão principal dependerá do tipo de interação entre as populações de diferentes espécies (THOEN *et al.*, 2010).

A infecção ocasionada pelo *M. bovis* já foi reportada em diversas espécies animais em todo o mundo (THOEN *et al.*, 2010). SANTOS *et al.*, (2009) reportaram a ocorrência de veados catingueiros de criatório conservacionistas positivos na tuberculinização. Os quatro cervídeos testados apresentaram reações positivas, sendo que dois evoluíram para óbito em menos de 60 dias do teste e outros dois após três meses. Os pesquisadores concluíram que os veados catingueiros podem representar possíveis reservatórios de *M. bovis* e, conseqüentemente, disseminadores de tuberculose para outros animais.

O bacilo pode ser eliminado pela respiração, leite, fezes, corrimento nasal, urina, secreções vaginais e uterinas e pelo sêmen (ABRAHÃO, 2018; JUNIOR *et al.*, 2018). Um grande número de bacilos pode ser eliminado pelas fezes de animais tuberculosos, contaminando as pastagens, contudo, tal via de transmissão não parece possuir importância epidemiológica (JUNIOR *et al.*, 2018).

A distribuição das lesões tuberculosas encontradas em bovinos naturalmente infectados mostra que 80% a 90% destas infecções ocorrem pela via respiratória sendo esta a porta de entrada mais frequente (MORRAIS *et al.*, 2007). A transmissão por esta via é facilitada pela convivência natural, em especial em rebanhos com alta densidade populacional e substancial movimentação de animais. A excreção respiratória seguida pela inalação de *M. bovis* é caracterizada a principal via através da qual a transmissão bovino- para -bavino ocorre (CORREA, 2006).

A ingestão de *M. bovis* a partir da ingestão de carcaças infectadas ou de pastagem, água e fômites contaminados são considerados uma via de infecção secundária à respiratória devido a uma quantidade menor de casos de bovinos com lesões mesentéricas. Embora menos frequente, a transmissão pela via Orofaringe é a principal forma de contaminação para vitelos jovens que se alimentam do leite ou colostro contaminado por *M. bovis* proveniente de vacas tuberculosas (NEILL *et al.*, 2010).

2.4. Patogenia

A tuberculose bovina é enfermidade de evolução crónica, caracterizada pela formação das lesões do tipo granulomatose de aspecto nodular denominado tuberculose. A via Oro-faríngea é a principal porta de entrada de bacilo da tuberculose bovina, favorecendo o aparecimento de lesões, principalmente nos gânglios brônquicos e ou mediastínicos uma vez instalado nos alvéolos, o bacilo é capturado pelos macrófagos alveolares, activados pelos linfócitos do tipo T, e o seu destino será determinado por factores como virulência do microrganismo, carga infectante e resistência do hospedeiro (ROXO, 2016).

A via de infecção por *M. bovis* pode ser deduzida a partir da localização das lesões post mortem. Lesões restritas a cavidade torácica sugerem que a infecção ocorreu pela inalação de aerossóis, enquanto as lesões encontradas nos linfonodos mesentéricos sugerem que a infecção foi adquirida pela ingestão do agente (POLLOCK *et al.*, 2007). No entanto, com a generalização da infecção as lesões podem ser encontradas em praticamente todos os órgãos (ROXO, 2016).

Após a infecção, há uma infecção inicial entre os macrófagos alveolares e microbactérias que definirá os eventos posteriores e decidirá as consequências da exposição aos bacilos (POLLOCK *et al.*, 2007). A bactéria pode ser morta e eliminada do hospedeiro, permanecer latente no hospedeiro, levar ao desenvolvimento da tuberculose activa, ou reactivar da latência em alguma etapa no futuro (WELSH *et al.*, 2005).

De acordo com TORTORA *et al.* (2010), se os bacilos não são destruídos, os fagócitos tendem a protegê-los dos anticorpos e outra defesa imune, e muitos sobrevivem e se multiplicam dentro dos fagócitos. Os sarcófagos e outras células defensivas se acumulam no sítio de infecção, formando uma camada circundante. Isto leva a uma lesão fechada denominada tuberculo, uma característica que dá a doença seu nome.

Os macrófagos assumem uma aparência distinta e são chamados células epitelioides, ou fundem-se formando “célula de Langhans”. Esse conjunto forma o centro de granuloma tuberculoso com necrose caseosa na qual pode-se observar mineralização por precipitação de sais de cálcio (SOUZA *et al.*, 2008). Em seguida, uma camada de linfócito e, em casos mais avançados, uma camada de fibroblasto torna a lesão circunscrita. Um nódulo pulmonar calcificado associado à lesão no linfonodo regional denomina-se “complexo primário” (MORRIS *et al.*, 2008). Os nódulos caseosos podem tornar-se confluentes e formar lesões cavitárias (ROXO, 2016).

A maioria dos macrófagos circundantes não são muito bem sucedidos em destruir as bactérias mas liberam enzimas e citocinas que causam uma inflamação lesiva ao pulmão. Após várias semanas, o interior do tubérculo torna se caseoso. Os bacilos da tuberculose são microaerifilos, não crescem bem nessa localização. Contudo, muitos permanecem doentes durante anos, e servem como base para a reactivação posterior da doença. Em alguns casos, contudo, a lesão caseosa aumenta lentamente e torna se menos pastosa e mais líquida, um processo denominado liquefacção. As condições dentro da cavidade começam a favorecer a proliferação dos bacilos da tuberculose, os quais começam então a se multiplicar pela primeira vez fora dos macrofagos. Agora a doença torna se altamente contagiosa; o liquido produz eficientes gotículas em aerossóis quando tossido e as bactérias começam a escapar do tubérculo. Estes microorganismos começam a penetrar nas vias aéreas do pulmão, e então no sistema respiratório circulatório e linfático (TORTORA *et al.*, 2010).

2.5. Sintomatologia Clinica

Os sinais clínicos mais sugestivos da tuberculose são: caquexia, lífonodos aumentados de tamanho, auscultação aérea do silêncio pulmonar e, em alguns casos, tosse, dispneia, mastite e infertilidade (CORREA, 2006). Bovinos tuberculosos quando submetidos ao trabalho, não acompanham os outros animais e demonstram cansaço e baixa capacidade respiratória. A dificuldade de ganhar ou manter o peso e queda na produção de leite também são relatados (OLMSTEAD *et al.*, 2014).

O estabelecimento da doença pode ser favorecido por factores tais como má nutrição, doenças intercorrentes, aumento da produção leiteira e gestação. No período inicial da infecção pode não haver sintomas, os sinais clínicos ocorrem casos mais avançados (HAAGSMA, 2011).

2.6. Tuberculose Zoonótica

A tuberculose zoonotica, como é chamada a infecção no homem determinada por *M. bovis*, é reconhecidamente uma ameaça à saúde pública em países em desenvolvimento (THOEN *et al.*, 2010). A contaminação no homem dá-se, em grande parte, quando crianças consomem leite contaminado, mas também pode ocorrer por inalação (RODOSTITS, 2011). As lesões costumam concentrar-se no trato digestivo, contudo, a infecção pulmonar ou outras manifestações não pulmonares da doença, como a linfadenite cervical, também podem ocorrer (GANGE *et al.*, 2007).

Em países industrializados, a infecção humana por *M. bovis* tem sido controlada em grande parte pela pasteurização do leite da vaca, inspecção do matadouro, e testes obrigatório de diagnóstico com abate do gado bovino reactivo (ROMERO *et al.*, 2006).

Em Moçambique as medidas do controlo da bTB desde a época colonial envolveram teste de tuberculização e abate de animais positivos com indemnização dos proprietários (MACHADO, 2015). Contudo, teve resultados limitados por falta de insumos para teste dos animais, ou por falta de financiamento para indemnização dos criadores (MACHADO, 2015).

Actualmente, o programa nacional de prevenção, controlo e erradicação da brucelose e tuberculose bovina em Moçambique (PNPCEBT) é uma proposta inspirada no programa brasileiro, mas não foi ainda implementado devido aos custos, acções e organização dos serviços da veterinária, além da produção pecuária que é diferente, tornando a proposta não adequada para a realidade moçambicana (MULLER *et al.*, 2013). Por essas razões de fraca implementação dos programas de controlo e erradicação da tuberculose bovina em Moçambique, ainda ocorre a comercialização da carne e leite sem controlo sanitário, o que representa uma ameaça à saúde pública, já que a ingestão desses produtos é uma possível via de infecção aos seres humanos (ABRAHÃO *et al.*, 2005).

A transmissão da tuberculose bovina para seres humanos ocorre principalmente em pessoas que lidam diariamente e directamente com animais vivos, assim como os trabalhadores de matadouros e magarefes, trabalhadores de lacticínios e laboratórios, o que reforça o carácter ocupacional da enfermidade (LINS *et al.*, 2010). Trabalhadores do sector pecuário podem adquirir a doença através da inalação de aerossóis em matadouros ou quando da tosse de bovinos infectados e assim desenvolverem quadro da tuberculose pulmonar típica. Pode haver também a transmissão desses pacientes para bovinos, mas a transmissão do *M. bovis* entre seres humanos é reportada como limitada (COSIVI *et al.*, 2011).

2.7. Impacto Económico da Tuberculose bovina

A importância económica atribuída à tuberculose bovina está baseada nas perdas directas resultantes da condenação de carcaças em matadouros, da queda no ganho de peso e diminuição da produção de leite, do descarte precoce e eliminação de animais de alto valor zootécnico (LILENBAUM, 2008; PACHECO *et al.*, 2009).

Um animal tuberculoso pode apresentar 10 a 25% de queda na capacidade +produtiva, além de ser um foco da doença para outros animais, e o homem (ROXO, 2007).

2.8. Métodos de diagnóstico da Tuberculose bovina

O diagnóstico da tuberculose bovina pode ser efectuado através de métodos directos e indirectos. Nos directos há a detecção e identificação do agente etiológico no material biológico enquanto nos métodos indirectos é pesquisada uma resposta imunológica do hospedeiro ao agente etiológico, que pode ser humoral (produção de anticorpos circulantes) ou celular (medida por linfócitos e macrófagos) (PACHECO *et al.*, 2009).

O diagnóstico da infecção em bovinos *in vivo* é realizado através de métodos indirectos, notadamente os testes imunológicos baseados na resposta mediada por células, como a intradermoreacção (LILENBAUM, 2005). O diagnóstico post mortem anatomopatológico ou exame macroscópico apresenta considerável dificuldade, uma vez que muitos processos inflamatórios granulomatosos possuem características morfológicas semelhantes às descritas para aquelas advindas da tuberculose (REIS *et al.*, 2012).

Entre os métodos de diagnóstico que poderiam complementar a inspecção post mortem estão os testes histopatológicos, com coloração dos tecidos por hematoxilina-eosina, a baciloscopia, com coloração por Ziehl-Neelsen; a cultura bacteriológica; e também testes moleculares baseados nas reacções em cadeia da polimerase (PCR) (FURLANETTO *et al.*, 2012).

2.8.1. Diagnóstico Clínico

A grande variabilidade de sintomas e lesões, bem como o carácter crónico da tuberculose, faz com que o diagnóstico clínico tenha valor relativo, porque o animal pode estar infectado, com um foco localizado, e apresentar-se sadio (CORREA, 2006). Estudos com animais inoculados com *M. bovis* em contacto com animais não inoculados demonstraram que não havia sinais clínicos compatíveis com a enfermidade nos dois grupos (CASSIDY *et al.*, 2016). Nos casos de tuberculose avançada, o diagnóstico clínico assume maior importância, pois os animais em geral apresentam decréscimo da sensibilização alérgica, podendo, por vezes, chegar à energia (CORREA, 2006).

O exame clínico inclui a auscultação, a percussão, a termometria e a palpação de glândulas mamárias e linfonodos superficiais. Neste último caso, são avaliados principalmente a exacerbação da sensibilidade dolorosa (após a tuberculinização) e a presença de linfadenomegalia. Também são sinais clínicos que devem ser levados em consideração a manifestação intensa de cansaço, a ocorrência de tosse seca não produtiva, a eliminação de secreção nasal e a manifestação de dispneia (ROXO, 2007). Podem ser reconhecidos também sinais de broncopneumonia com tosse húmida (com presença de escarro) seguida de dispneia e taquipneia. Animais tuberculosos, quando submetidos à marcha forçada, tendem a posicionar-se atrás dos demais, demonstrando cansaço e baixa capacidade respiratória (FURLANETTO *et al.*, 2012).

2.8.2. Diagnóstico Alérgico-cutâneo

Moçambique através do programa nacional de controlo e erradicação da tuberculose (PNCEBT), instituído em 2013 pelo Ministério de Agricultura, determinou como método padrão de diagnóstico da tuberculose bovina, a tuberculinização intradérmica.

A tuberculinização é um método rápido seguro e económico e serve para pesquisar a sensibilidade dos animais às tuberculoproteínas específicas. Pode revelar infecções incipientes a partir de três a oito semanas da exposição ao *Mycobacterium*, alcançando boa sensibilidade e especificidade. Para que realmente funcione como ferramenta diagnóstica em um programa de controlo, é indispensável que o procedimento seja padronizado quanto à produção das tuberculinas, equipamentos para realização das provas, tipos de provas e critérios de leitura (FURLANETTO *et al.*, 2012).

O exame intradérmico possui três modalidades, ou seja, prega caudal, cervical simples e cervical comparativo. O teste da prega caudal e cervical simples são empregues como testes de triagem em pecuária de corte e leite, respectivamente. O teste cervical comparativo é utilizado como teste confirmatório, por causa da sua maior especificidade em relação aos testes simples. Esse teste permite eliminar a maior causa de reacções falso-positivas, que são as infecções por microbactérias ambientais ou pelas do complexo MAIS, que não são patogénicas para os bovinos e bubalinos, entretanto provocam reacções inespecíficas à tuberculinização, dificultando o diagnóstico da tuberculose nessas espécies (NEILL *et al.*, 2011).

A reacção alérgica à tuberculina é uma reacção de hipersensibilidade retardada tipo IV mediada por resposta celular e com baixa produção de anticorpos. Após a inoculação em animais previamente sensibilizado, a tuberculina é fagocitada e seus peptídeos apresentados na superfície celular dos macrófagos. A resposta específica tem início quando os linfócitos T sensibilizados reconhecem os antígenos tuberculínicos e secretam citocinas, que activam células endoteliais venulares e que por sua vez recrutam monócitos e leucócitos do sangue, enquanto outras citocinas convertem os monócitos em macrófagos activados capazes de eliminar o antígeno. Macroscopicamente a resposta se manifesta na forma de edema e endurecimento progressivo no local da aplicação que atinge seu máximo por volta de 72 horas pós-inoculação, diminuindo em seguida (CORREA, 2008).

O teste de tuberculina em bovinos apresenta uma sensibilidade com variação entre 32 a 99% e uma especificidade de 75,5 a 99,9% (VITALE *et al.*, 2013). Alguns animais, ainda que infectados, não respondem aos testes tuberculínicos. Factores como, infecção recente, final de gestação, desnutrição e doença avançada podem ocasionar falsos negativos aos testes. Tais resultados podem ocorrer por variações inerentes ao próprio teste ou por variações na leitura e interpretação do exame (JORGE, 2001). Contudo, animais em estado avançado de infecção podem manifestar o fenómeno de energia, definido como ausência de reactividade cutânea à tuberculina em indivíduos previamente sensibilizados (ROXO, 2005).

Como antígenos para desencadear a reacção de hipersensibilidade são empregues tuberculinas sintéticas de dois tipos: o PPD bovino, procedente do *M. bovis*; e o PPD aviário proveniente do *M. avium* (MONAGHAN *et al.*, 2004).

2.8.3. Diagnóstico Bacteriológico

O diagnóstico definitivo da tuberculose é realizado mediante o isolamento e a identificação do agente por métodos bacteriológicos. É um método seguro e considerado “Padrão-ouro” porém, requer meios de cultivo específicos, descontaminação da amostra, além de largo período para que se obtenha as primeiras colónias (30 a 90 dias) (PINHO *et al.*, 2002), para que obtenha ainda bons resultados na bacteriologia é necessário que os tecidos estejam em boas condições, portanto, a colecta, armazenagem e o tempo até o recebimento no laboratório são fundamentais para o sucesso do isolamento (CORNER, 2006).

O crescimento de *M. bovis* pode durar até mais de oito semanas (WARDS *et al.*, 2007), e em um meio sólido apropriado com piruvate, as colónias são de aspecto liso e de coloração

esbranquiçada. Padrões de crescimento característico e morfologia colonial podem prover um diagnóstico presuntivo de *M. bovis* (OIE, 2008).

Na comparação entre os dois processamentos, ARAUJO *et al.* (2005), realizaram estudo anatomopatológico e microbiológico de 72 amostras teciduais provenientes da inspeção post-mortem de bovinos em matadouros–frigoríficos de Mato grosso do sul. As lesões sugestivas de tuberculose bovina concentram-se em linfonodos da região torácica. O exame histopatológico utilizado foi o método hematoxilina-eosina (HE) no qual revelam granuloma em 74% das amostras. No exame microbiológico, 23,6% das amostras cultivadas em meio de stonebrink apresentaram crescimento de bacilos álcool-ácido resistentes em até 23 dias de incubação. Esses resultados reforçam a necessidade de que as lesões sugestivas de tuberculose sejam avaliadas simultaneamente através de mais de um recurso diagnóstico.

2.8.4. INSPENSÃO NO MATADOURO

2.8.4.1. Inspensão Poste-mortem/ exame macroscópico

Na inspeção post mortem, pelo exame macroscópico, são detectadas as lesões sugestivas de tuberculose que vão servir de subsidio a formulação do diagnóstico e posterior julgamento da carcaça, conforme os critérios do regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (MIRANDA *et al.*, 2018). O exame post mortem, realizado pela inspeção sanitária, é uma etapa essencial para o diagnóstico da tuberculose bovina. No entanto, o resultado só pode ser dado como “suspeita diagnóstica”, já que se trata apenas da análise macroscópica da lesão encontrada (WELSH *et al.*, 2005).

As lesões provocadas pelo *M. bovis* não são patognomónicas da tuberculose bovina. As mesmas apresentam coloração amarelada em bovinos e ligeiramente esbranquiçadas em búfalos. Lesões típicas de tuberculose são localizadas superficialmente ou profundamente, como tubérculos firmes e grosseiros ou construídos apartir de superfícies mucosa ou serosa (WELSH *et al.*, 2005).

São nódulos de 1 a 3 cm de diâmetro ou mais, que podem ser confluentes, com aspecto purulento ou caseoso, presença de cápsula fibrosa, podendo apresentar necrose de caseificação no centro da lesão ou ainda, calcificação nos casos mais avançados (WELSH *et al.*, 2005).

O tempo destinado para a inspecção de abate pode ser insuficiente para detectar todas as lesões, o que dificulta o exame mais detalhado, além das lesões não visíveis. A rotina de inspecção de carnes pode ser inadequada para identificar lesões discretas e esse facto pode ser observado quando não se identificam lesões discretas e esse facto pode ser observado quando não se identificam lesões de abate de animais reagentes à tuberculinização. A inspecção atenta de pelo menos 6 pares de linfonodos entre os da cabeça, torácicos, mesentéricos e da carcaça e entre outros órgãos como pulmão, fígado, baço, rim, úbere e órgãos genitais podem identificar 95% dos animais com lesões macroscópicas (CORNER, 2012; MORRIS *et al.*, 2012).

O exame macroscópico nas carcaças na linha de inspecção apresenta certa dificuldade, uma vez que muitos processos inflamatórios granulomatoses possuem características morfológicas semelhantes às descritas para aquelas advindas da tuberculose (REIS *et al.*, 2013). Por meio de estudo histológico e bacteriológico de lesões macroscopicamente similares a tuberculose (ANDRADE *et al.*, 2016). A inspecção de abate possui sensibilidade baixa, mas seu custo é eficaz para monitorar lesões nos animais (CORNER, 2012).

Situação onde os bovinos positivos aos testes tuberculínicos não apresentem lesões visíveis à necropsia podem ocorrer. FRAMGUAs *et al.*, (2008), identificaram ocorrência de 72,16% de lesões macroscópicas sugestivas de tuberculose em bovinos reagentes ao teste cervical comparativo. Alguns aspectos podem estar envolvidos, tais como: os animais estarem no estágio inicial da doença, lesões estarem localizadas em parte do corpo que geralmente não são examinadas na inspecção de rotina ou contacto com outras microbactérias que não *M. bovis* (SOUZA *et al.*, 2006). Por isso, para diferenciar falso-positivos de lesões não observadas, é necessário que se faça uma inspecção post-mortem bem minuciosa, o que muitas vezes é difícil de realizar em matadouro (ROXO, 2005).

Quando se utiliza do exame macroscópico nas linhas de inspecção dos matadouros, bons resultados são alcançados pelos programas de controlo, implementados em regiões com alta prevalência da doença (CORNER, 2012). Porém, à medida que a prevalência diminui, a identificação dos rebanhos remanescentes se torna progressivamente mais difíceis. Embora actualmente não haja nenhum método de diagnóstico, ante ou post-mortem, capaz de identificar todos os animais infectados com *M. bovis*, a detecção se torna mais sensível quando mais de um método de diagnóstico é usado (SOUZA *et al.*, 2006).

2.8.5. Diagnóstico Histopatológico

O diagnóstico histopatológico consiste na análise das lesões presentes em material colhido geralmente post-mortem (ANDRADE *et al.*, 2016). Fragmentos de tecidos com lesões sugestivas de tuberculose podem ser enviados para exame histopatológico em frascos de boca larga, hermeticamente fechados, imersos em solução de formaldeído a 10% (ANDRADE *et al.*, 2016). Depois de serem fixados, incluindo a parafina e microtomizados, os cortes histológicos dos tecidos lesados podem ser submetidos à coloração de hematoxilina-eosina (HE), examinados sob microscópio de luz.

A morfologia e a organização do granuloma característico da tuberculose possui uma cápsula conjuntiva adjacente a ela há presença de infiltrado inflamatório mononuclear, predominantemente constituídos por macrófagos e linfócitos, também são observadas células epitelioides, células gigantes tipo langhans delimitando a área de necrose de caseificação que no seu interior pode conter material amorfo, basofílico, resultado da calcificação distrófica (CASSIDY *et al.*, 2009).

Os métodos histológicos empregues para o diagnóstico da tuberculose são rápidos e baratos, contudo, apresentam baixa especificidade e sensibilidade (FURIANETTO *et al.*, 2012). Outros agentes que não o *M. bovis* podem produzir lesões semelhantes à da tuberculose bovina, dificultando o diagnóstico (KANTOR *et al.*, 2006).

No corte histológico pode ser empregue ainda, coloração especial para visualização de microbactérias. O método clássico de coloração é o Ziehl-Neelsen ou método de coloração a quente e sua variante Fite faraco. Nesta metodologia as lâminas histopatológicas são coradas com corante fucsina e azul de metileno (VARELLO *et al.*, 2008). E os bacilos, forma das microbactérias, são visualizados como bastonete delgados, ligeiramente curvos isolados, aos pares ou em grupos corados em vermelho com fundo azul (VARELLO *et al.*, 2008).

Amostras frescas também podem ser fixadas em lâminas e coradas pelo método de Ziehl-Neelsen para a pesquisa do bacilos álcool-ácido resistente (BAAR), contudo a sensibilidade do método é baixa, e um resultado positivo sugere fortemente tratar-se de microbactérias, mas não informa a espécie. Essa mesma coloração pode ser empregue para colónias isoladas em meio de cultura. Muitas características, inclusive a propriedade tintorial, superpõem-se nos géneros *Mycobacterium* e *Nocardias*, tornando difícil em alguns casos a diferenciação de ambos (FURIANETTO *et al.*, 2012).

2.8.6. Diagnóstico Sorológico

As infecções mico bacterianas determinam primariamente o aparecimento de resposta imune de natureza predominantemente celular (POLLOCK *et al.*, 2005). Por isso teste sorológico são menos eficientes para detectar o bovino doente nos primeiros estágios de infecção quando os níveis de anticorpos são baixos (WELSH *et al.*, 2005).

POLLOCK *et al.*, (2012), mediram a função das respostas de células B e reportaram que essas células induziram a produção de anticorpos nas etapas avançadas da tuberculose bovina. Este facto foi reforçado por Welsh *et al.* (2005), que demonstraram o progresso da resposta imunológica celular para humoral em todos animais tuberculosos analisados. A progressão da doença pode explicar a energia de alguns bovinos infectados aos testes comuns baseados na impersensibilidade tardia. Ausência da resposta celular nos animais infectados ocorre em particular quando a carga bacteriana é alta (Mc NAIR *et al.*, 2010).

Entre tanto, existem varias vantagens para o uso dos métodos sorológicas como ELISA para o diagnóstico da tuberculose bovina. Esses testes requerem somente uma manipulação dos animais e somente uma visita do veterinário na propriedade. A amostragem sanguínea pode se repetida com a frequência necessária sem alterar o estado imune do animal. A interpretação é baseada nos valores numéricos e é mais objectiva que a observação da reacção da hipersensibilidade na pele do animal (MEDEIROS, 2009; LILENBAUM *et al.*, 2011). Para diagnosticar o gado bovino infectado por *Mycobacterium bovis*, os antígenos geralmente empregues são o PPD ou antígeno purificados do *M. bovis* isolados ou associados (LILENBAUM *et al.*, 2011).

WETERS *et al.* (2011), utilizaram kit comercial de ELISA/IDEXX, e verificaram 63% de sensibilidade do teste em soro sanguíneo de bovinos reagentes aos testes de tuberculinização intradérmica e/ ou histopatológica e/ ou cultura. Verificou-se que a sensibilidade aumenta à medida que a doença se avança. Contudo, os autores sugerem que o kit pode ser utilizado na rotina de monitoramento de rebanhos que priorizam a eliminação de animais reactivos especialmente em regiões ou situações em que os procedimentos do teste tuberculínicos não são viáveis.

Embora as análises sorológicas não possam ser consideradas como a primeira escolha em método de diagnóstico, muitos pesquisadores descrevem os objectivos estratégicos de seu uso (SILVA, 2005, LILENBAUM *et al.*, 2006). A estratégia é baseada na existência anérgicos

(SILVA, 2005; Mc NAIR, 2010). E no aumento dos anticorpos nas etapas mais avançadas da doença (POLLOCK *et al.*, (2002).

LILENBAUM *et al.*, (2006), identificaram vacas tuberculosas usando a ELISA em 18 rebanhos incluídos em um programa de controlo da tuberculose, e confirmaram a infecção mediante o isolamento de *M. bovis* das lesões do pulmão. Neste caso, o ELISA foi empregue como um teste de diagnóstico complementar e melhorou o controlo da tuberculose mediante a identificação das vacas anérgicas. Estes animais se mostraram em uma etapa posterior como infectados de acordo com os padrões previamente estabelecidos no protocolo de estudo.

2.8.7. Diagnóstico molecular

Procedimentos mais avançados para o diagnóstico da tuberculose estão sendo utilizados para a identificação do agente como as sondas de DNA, e a técnica de PCR (HAAGSMA, 2005). Tais métodos estão sendo desenvolvidos para detectar directamente o agente em amostras clínicas, para identificar o agente isolado pelos métodos clássicos de bacteriologias e para avaliar a variação genética dentro de uma espécie de microbactérias (WARDS *et al.*, 2007).

As técnicas moleculares já encontram uma aplicação prática dentro dos programas de controlo e erradicação da tuberculose bovina sendo utilizadas de forma complementares aos procedimentos bacteriológicos clássicos (WARDS *et al.*, 2007). Devido as dificuldades encontradas no diagnóstico da tuberculose nos animais, como limitações relacionadas à sensibilidade especificidade do exame alérgico-cutâneo e o longo período para a confirmação da presença do agente pelos métodos bacteriológicos de rotina, aumentou o interesse pelo desenvolvimento de métodos moleculares para a detecção directa do agente em amostras clínicas, sendo a PCR o teste mais apropriado (WARDS *et al.*, 2007).

Para detectar *M. bovis*, o primer seleccionado poderá ser : género-especifico, especifico para detectar microbactérias do complexo *M. tuberculosis*, ou espécie-especifico, capaz de detectar apenas o *M. bovis* (WARDS *et al.*, 2007).

A identificação molecular dos membros do MTBC é baseada na utilização de dois conjuntos de PCR multiplex. O primeiro é o TB multiplex que identifica o género *Mycobacterium*, o complexo MTBC e o complexo *M. avium-intracellulare* e o RD multiplex que discrimina os membros do MTBC.

a) TB Multiplex PCR

O TB multiplex PCR, descrito por WILTON *et al.*, (1992), tem como alvo os genes 16S rRNA específico para o género *Mycobacterium*, 16S rRNA das regiões hipervariáveis do complex MAI, e MPB70 específico para o complex *M. tuberculosis*. A preparação da master mix do PCR TB multiplex num total de 12µL de reacção são usados 5.5µL de água ultrapure, 2µL de dNTP a uma concentração de 1.25mM, 1.25µL do buffer, 0.375µL de MgCl₂ a 50mM e 0.075µL de Taq DNA polymerase (1.25U) e 0.3µL de cada um dos seis primers todos na concentração de 10pmol/µL, e após a preparação da master mix é adicionado 1µL do DNA.

A interpretação dos resultados é a combinação do tamanho da banda para o género (1080pb) e as outras. Complexo *M.tuberculosis* (1080pb e 372pb), *M.avium* (1080pb e 180pb), *M. intracellulare* (1080pb e 850pb). Em caso de ausência da banda de 1080 pb e presença das descritas anteriormente considera-se válida a interpretação. O quadro 1 mostra os primers utilizados para identificação de MTBC e outras microbactérias.

Tabela 1. Primers que são usados no TB multiplex PCR e tamanho esperado para identificação do género *Mycobacterium* e complexos MTBC e MAI. (Fonte: WILTON *et al.*, 1992)

Primers	Identificação	Sequencias (5'3')	Genes alvo	Pares de base
Mycgen-F	Género	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG		
Mycgen-R	<i>Mycobacterium</i>	TGCACACAGGCCACAAGGGA	16S rRNA	1080
TBd-1		GAACAATCCGGAGTTGACAA		
TBd-2	MTBC	AGCACGCTGTCAATCATGTA	MPB70	373
Myclnt	<i>M.intracellulare</i>	CCTTTAGGCGATGTCTTTA		850
MycAv	<i>M. avium</i>	ACCAGAAGACATGCGTCTTG	16S rRNA	180

Os ciclos de PCR multiplex são os seguintes: uma desnaturação inicial a 95°C por 10min, seguido por uma desnaturação a 94°C por 1min, anelamento a 55°C por 1min e extensão de 72°C por 1min 30s durante 35 ciclos e por fim uma extensão de 72°C.

b) RD Multiplex PCR

As amostras que forem identificadas como sendo MTBC no TB Multiplex PCR são submetidas a identificação pelo RD4 PCR multiplex, que é um PCR multiplex descrito por WARREN *et al.* (2006), três primers em uma reacção de 12µL de volume total onde são

usados 5.93µL de água ultrapura, 2.5µL de dNTP (1.25mM), 1.25µL do buffer do MgCl₂ e 0.375µL de MgCl₂ a 50mM e 0.075µL de Taq DNA polimerase (1.25U) e uma série de seis primers que tenham sido usados todos na concentração de 10pml/µL, para cada um desses primers é adicionado 0.3µL e após a preparação da master mix é adicionado 1µL do DNA.

A interpretação dos resultados é a confirmação da presença ou ausência da região RD em análise. No quadro 2 estão apresentados os primers e o esperado para identificação dos membros do MTBC e a chave para interpretação da diferenciação do *M. bovis* e *M. tuberculosis*.

Tabela 2. Primers que são usados na diferenciação dos membros do MTBC e o tamanho esperado. (Fonte: WARREN *et al.*, 2006)

Primers	Identificação	Sequências (5''3'')	Genes alvo	Pares de base
RD4-1	Diferenciação de	ATGTGCGAGCTGAGCGATG	Região RD4	268/172
RD4-2	<i>M. bovis</i> de	TGTACTATGCTGACCCATGCG		
RD4-3	<i>M. tuberculosis</i>	AAAGGAGCACCTCGTCCAC		

Os ciclos de PCR RD4 multiplex são usados os seguintes: uma desnaturação inicial a 95°C por 10min, seguido por uma desnaturação a 94°C por 1min, anelamento a 55°C por 1min e extensão de 72°C por 1min 30s durante 35 ciclos e por fim uma extensão de 72°C.

2.9. Controlo e Profilaxia

O controlo da tuberculose bovina é baseada no diagnóstico oportuno e na eliminação dos animais doentes, junto com a prevenção da disseminação da infecção, tanto dentro como fora dos rebanhos (MORRISON *et al.*, 2010). O desenvolvimento de novos testes de diagnóstico e a aplicação de técnicas de genotipificação para a investigação epidemiológica dos isolados estão entre as principais ferramentas que se projectam como desafios para os programas de controlo (JORGE, 2011).

Segundo o PEDSA (2015), o programa nacional de controlo e erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) foi instituído em 2013, com objectivo de diminuir o impacto negativo dessas zoonoses na saúde humana e animal, além de promover a competitividade da pecuária nacional. O controlo da doença se baseia no método teste-e-abate, isto é, no diagnóstico dos animais reactivos e envio a matadouros sanitários, onde um grupo de agentes veterinários (médicos) examina as lesões da carcaça e avalia quanto ao seu destino (MAXLHUZA *et al.*, 2017).

O principal desafio técnico do programa de controlo e erradicação da tuberculose em Moçambique é a certificação de curais livres ou monitoradas para tuberculose, dentro dos princípios técnicos sugeridos pelo código zoossanitário internacional. A participação do produtor é voluntária. O saneamento dos curais infectados é feito testando-se todos os animais e sacrificando os reagentes positivos. Em curais monitorados, a adesão também é voluntária e os testes de diagnóstico são realizados por amostragem. Para o referido saneamento, o PNCEBT conta com a participação dos médicos veterinários do sector privado, treinados para actuar no programa em coordenação com os médicos veterinários do ministério de agricultura afectos nos serviços distritais das actividades económicas, acompanhando a realização das tuberculizações finais que conferem aos curais o certificado de monitorada ou livre (MINED, 2015).

Entre as estratégias adoptadas pelo PNCEBT destaca-se a obrigatoriedade do serviço de inspecção post-mortem em enviar amostras de lesões sugestivas de tuberculose ao laboratório (para exames histopatológicos e bacteriológicos), e quando confirmada a infecção por *M. Bovis*, em rebanhos certificados como livres ou monitorados, todos os animais de idade igual ou superior a seis semanas devem ser submetidos a testes de diagnóstico da tuberculose, destinando os reagentes positivos ao sacrifício (MINED, 2015).

Medidas gerais de higiene, como limpeza e desinfecção das instalações, cuidado na introdução de novos animais no rebanho com testes negativos provenientes de rebanhos livres, quarentenário e isolamento de animais suspeitos são importantes para evitar que a doença se instale no cural (CASTRO *et al.*, 2009).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização da Área de Estudo

O trabalho foi realizado na província de Maputo, no matadouro municipal de Maputo, localizado na estrada N2 no período de Julho a Setembro de 2021. O mesmo desenvolve actividades de abate e desossa de bovinos de corte com o destino ao fornecimento da carne ao mercado consumidor. O gado é proveniente de todo o país, sobretudo da região Sul de Moçambique principalmente da província de Maputo com maior enfoque para os distritos de Magude, Moamba, Namaancha e Matutuine.

O matadouro municipal de Maputo é composto por duas linhas de inspecção, ant-mortem e post-mortem. Na primeira linha os animais foram submetidos a avaliação da condição física do animal (idade, aptidão, temperamento, aprumos, pêlo, pele, femeras, locomoção e conformação dos animais segundo as recomendações da ficha de vigilância sanitária.

Na segunda linha fez-se a inspecção post-mortem, que consistiu na extração dos linfonodos e de seguida cortes transversais em casos de ausência de nódulos.

3.2. Procedimentos metodológicos

De um total de 1255 animais (bovinos) abatidos no Matadouro Municipal de Maputo, provenientes dos distritos de Magude, Moamba, Namaancha e Matutuine no período de 27 de Julho a 02 de Setembro de 2021, foram seleccionados aleatoriamente convencionalmente 600 animais, dos quais 290 apresentaram algum tipo de lesão. A recolha de amostras compreendeu as seguintes etapas:

- i) **Primeira etapa**- consistiu no arrolamento, identificação e agrupamento dos animais provenientes das diferentes regiões da província de Maputo.
- ii) **Segunda etapa**- consistiu na determinação de lesões sugestivas da bTB através de inspecção que consistiu na inspecção dos linfonodos mandibulares, submandibulares, pre-escapulares, popliteos, pulmonares, mediastínicos e mesentéricos. A determinação de casos positivos a Btb, foi com base na presença de lesão granulomatosa, nodular, caseosa, ou purulenta, calcificada ou liquefeita de cor amarelada, leitosa ou creme, circunscrita ou não, de vários tamanhos, e os resultados registados numa ficha de registo.

iii) Terceira etapa (Colheita de amostras)- para avaliar melhor as lesões dos órgãos e carcaça, foram efectuados cortes nas vísceras examinadas macroscopicamente (15 a 25 gramas de massa tecidual da lesão para um tubo colector estéril, devidamente identificado e transportado em bolsa térmica acondicionadas em um freezer a -20oc e processadas no máximo em 72 horas após a colecta) para o laboratório da Faculdade de Veterinária da Universidade Eduardo Mondlane (FACVET-UEM), afim de determinar a prevalência da tuberculose bovina através do método histopatológico.

3.3. Analise de dados

Para análise estatística os dados foram registados numa ficha de registo (anexo 2) e introduzidos num pacote Microsoft excel 2010, de modo a facilitar a construção de tabelas contendo informação referente ao tipo de órgão ou região afectado em função das variáveis supracitadas.

3.3.1. Identificação de lesões sugestivas a Tuberculose bovina em carcaças de bovinos abatidos no Matadouro Municipal de Maputo

Para a identificação das lesões sugestivas da tuberculose bovina, foram seleccionados aleatoriamente 600 carcaças dos 1255 animais abatidos, dos quais foram submetidos a inspecção post-morte. Para a inspecção das carcaças, recorreu ao método macroscópico descrito por JONES *et al.*, (2000), que orienta para a avaliação dos nódulos granulomatoses ou purulentos ou caseoso, com presença de cápsula fibrosa. No caso dos órgão como pulmão, fígado , fazia-se corte tecidual da região afectada. Detectada a lesão sugestiva foi realizada análise descritiva dos resultados, com cálculo de percentual simples.

3.3.2. Mapeamento da ocorrência da tuberculose bovina em função da proveniencia dos animais

Para o mapeamento da TB nos distritos da província de Maputo, fez-se amostragem aleatória dos distritos e determinada a prevalência com base na fórmula abaixo descrita pela OIE, (2019).

$$Prevalência\ de\ animais\ positivos(\%) = \frac{Número\ de\ Casos\ positivos}{Número\ total\ de\ animais\ avaliados} \times 100$$

Os os dados também form submetidos ao teste quiquadrático quadrado (X^2), com base na formula abaixo e os resultados analisados no pacote estatístico STATA, a 5% de significância

$$\text{Teste de qui quadrado } (X^2) = \left(\frac{\text{Número de casos observados} - \text{Número de casos esperados}}{\text{Número de casos esperados}} \right)^2$$

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Exame Macroscópico de lesões sugestivas da Tuberculose bovina em Carcaças de Bovinos abatidos no matadouro municipal de Maputo

Durante o exame post mortem, verificou-se que 290 (48.3%) carcaças apresentaram algum tipo de lesão sugestiva da tuberculose bovina e 310 (51.7%) inconclusivos. Na maioria das carcaças avaliadas foi encontrado maior número das lesões sugestivas da bTB nos linfonodos mediastínicos com 144 (24.3%), seguido de pulmão 76(12.7%) e fígado 42(7.1%). Foram verificados baixos índices de lesões macroscópicas sugestivas nos linfonódos da cabeça 13 (2.2%) e carcaça 7 (1.2%), (tabela 3).

As lesões sugestivas de bTB visualizadas foram nódulos granulomatosos de aspecto liquefeita de cor branca, com presença de cápsula fibrosa em alguns casos, não tendo encontrado nenhum caso de calcificação no centro da lesão (Vide figura 1 no apêndice 1). Na maioria das carcaças eram consideradas positivas com lesões sugestivas da bTB localizadas quando, em pelo menos um dos órgãos avaliados, fosse verificada a presença de um nódulo.

Nove carcaças (1.5%) apresentaram quadro de tuberculose generalizada (tabela 3) com nódulos de 0.8 a 1.3cm com envolvimento de dois ou três órgãos, assim como em toda extensão da carcaça, favorecendo deste modo a hipótese nula. Porém, fundamenta FURLANETTO *et al.* (2012), em relação a este aspecto, que a predominância de carcaças com lesões generalizadas da bTB significa alto risco de exposição de animais e humanos, sobre tudo das populações rurais que têm estreito contacto com esses animais. Esse risco é ampliado em virtude de consumo da carne sem a devida inspeção.

Da inspeção feita neste estudo, não foi possível inspecionar ou incluir os linfonodos mesentéricos (vísceras) devido ao volume de animais abatidos por dia.

Observando os resultados da tabela 3, pode se inferir que o diagnóstico das lesões sugestivas macroscópicas da bTB em animais abatidos no matadouro municipal de Maputo, foi fortemente afectado pela idade e origem geográfica.

NDOU *et al.* (2010), aponta que, a origem geográfica e a faixa etária constituem factores de risco para infecção por *Mycobacterium tuberculosis*.

Neste estudo, a prevalência de lesões sugestivas de bTB em animais com maior de dose e menor ou igual a vinte e quatro (>12 a ≤24) meses de idade, apresentou diferença

significativa ($P < 0.05$) quando comparado aos demais grupos etários. Na categoria de animais com idades maior de dose e menor ou igual a vinte e quatro (>12 a ≤ 24) meses não foi observada diferença estatisticamente significativa entre si. Esta situação à semelhança do encontrado por MTSHALI *et al.* (2007), pode ter ocorrido em função das diversas questões que envolvem a qualidade da imunidade passiva adquirida via colostro, o tempo e a qualidade de desenvolvimento da imunidade adquirida a partir da infecção natural por estimulação activa do agente infeccioso (*M. bovis*). Estes resultados demonstram que um grande número de animais jovens estavam na sua fase inicial de infecção, o que pode ter dificultado o diagnóstico das lesões sugestivas no exame macroscópico e tendo favorecido maior exposição das lesões sugestivas macroscópicas em animais com idade maior que vinte e quatro e menor que trinta e seis (>24 a ≤ 36) meses assim como maior ou igual a trinta e seis (>36) meses nas regiões estudadas.

Com relação à origem dos animais, os distritos de Magude, Matutuine e Moamba são aqueles que apresentaram maior taxa de lesões sugestivas da bTB com 67(47.2%); 18(18.4%) e 48 (17.0%) respectivamente, quando comparados com a taxa de lesões sugestivas dos animais do distrito de Namaancha que apresentou 11(14.3%), (Tabela 3).

Tabela 3. Prevalência das Lesões sugestivas da Tuberculose Bovina em carcaças de Bovinos Abatidos no Matadouro Municipal de Maputo

Variáveis	L. Mediast.		Cabeça		Pulmão		Fígado		Carcaça		Localizada		Gener.	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Prevalência	144	24.3↑	13	2.2↓	76	12.7	42	7.1	7	1.2↓	281	46.8	9	1.5↓
>12a≤24	78	22.4 ^a	5	1.5 ^a	52	15.1 ^a	32	9.3 ^b	2	0.6 ^a	169	48.8 ^b	1	0.3 ^{ab}
>24a≤36	45	28.5 ^b	2	1.6 ^a	11	7.1 ^{ab}	8	5.1 ^a	4	2.5 ^b	70	44.3 ^a	3	1.9 ^a
>36	21	21.9 ^a	6	6.3 ^b	13	13.5 ^a	6	4.7 ^a	1	1.1 ^a	43	44.4 ^a	5	5.2 ^b
P- valor		0.0026		0.0128		0.0164		0.0015		0.1143		0.7201		0.0005
Sexo														
Fêmeas	58	40.6 ^b	6	4.2 ^b	18	12.6 ^a	10	7.1 ^a	2	1.4 ^a	85	59.4 ^b	2	1.4 ^a
Machos	86	18.8 ^a	7	1.5 ^a	58	12.7 ^a	32	7.1 ^a	5	1.1 ^a	197	43.1 ^a	7	1.5 ^a
Distritos														
Magude	67	47.2 ^b	6	4.2 ^b	23	16.2 ^{ab}	12	8.5 ^a	1	0.7 ^a	66	46.5 ^a	2	1.4 ^a
Moamba	48	17.8 ^a	4	1.4 ^a	26	9.7 ^a	14	5.1 ^{ab}	3	1.1 ^a	133	47.1 ^a	4	1.4 ^a
Namaancha	11	14.3 ^{ab}	2	2.6 ^{ab}	16	20.8 ^b	7	9.1 ^a	2	2.6 ^b	36	46.8 ^a	1	1.3 ^a
Matutuine	18	18.4 ^a	1	1.1 ^a	11	11.2 ^a	9	9.2 ^a	1	1.1 ^a	46	46.9 ^a	2	2.1 ^b

P- valor	0.0001	0.0002	0.0002	0.0031	0.0026	0.9805	0.7009
----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

n-número de amostras positivas para lesões sugestivas da bTB; %- índice de prevalência de lesões sugestivas da bTB; * valores da mesma coluna seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas entre os valores estudados pelo teste X² ou Exacto de Fisher em nível de 5% de confiança.

Analisando os resultados representados na tabela 3, é possível verificar que o índice das lesões sugestivas da bTB encontrados nas carcaças de bovinos abatidos no matadouro de Maputo 290 (48.3%), foi inferior ao reportado por FRÁGUAS *et al.* (2008) citados por MARIANA (2013), que observaram (72.16%) de carcaças com lesões e 44% em bovinos reagentes à tuberculinização na mesma província.

O padrão da distribuição de lesões sugestivas de bTB, envolvendo linfonodos mediastínicos, cabeça, fígado, carcaça e sempre envolvendo os pulmões, foi similar ao encontrado por MAXLHUZA *et al.* (2014) em Moçambique. SAIBU *et al.* (2015) da Nigéria citado por Osvaldo FREDERICO (2018), encontraram padrão de distribuição de lesões idênticos aos encontrados neste estudo no Matadouro de Maputo. Os resultados do presente estudo dos animais que apresentaram lesões sugestivas de bTB nos órgãos e carcaças, não mostraram sinais clínicos evidentes da tuberculose bovina.

Trabalhos feitos por AWAH NDUKUM *et al.*, 2010; BIFFA *et al.* (2010), apontam o envolvimento dos linfonodos mesentéricos (22.9 a 49.2%) nas lesões de tuberculose. Segundo BIFFA *et al.* (2010), durante a inspecção sanitária em Matadouros, nos animais em que foi observada apenas uma lesão causada por *M. bovis*, o linfonodo mesentérico foi o local mais afectado, correspondendo a 43.9% dos casos avaliados, o que contrasta com os resultados dos procedimentos feitos no matadouro de Maputo que exclui este exame na lista das prioridades.

Apontam AWAH NDUKUM *et al.* (2010), que a utilização do exame macroscópico nas linhas de inspecção dos matadouros tem demonstrado bons resultados, principalmente quando implementados em regiões com alta prevalência da doença.

Confronta ATIADAVE *et al.* (2014), que à medida que a prevalência diminui, a identificação dos rebanhos remanescentes se torna progressivamente mais difícil, sendo que não existe nenhum método de diagnóstico, ante ou post mortem, capaz de identificar todos os animais infectados com *M. bovis*, porém, a detecção se torna mais sensível quando mais de um método é utilizado.

A presença de animais inconclusivos nas lesões macroscópicas sugestivas da bTB no exame post mortem, demonstra limitação do método de diagnóstico e a necessidade da utilização de métodos complementares para um resultado conciso. Esta observação verificada nos resultados do matadouro de Maputo é fundamentada por MEDEIRO (2009), ao afirmar que este facto também pode estar relacionado a diferentes condições imunológicas apresentadas pelos animais infectados, o que resultaria em diferentes sensibilidades e especificidade dos testes de acordo com cada animal testado. Em casos de animais recentemente infectados ou em estágio avançado de infecção podem ocorrer resultados Falso-negativos ou inconclusivos (MEDEIRO, 2009).

A possibilidade de existir animais positivos sem lesões macroscópicas da tuberculose bovina dentre os 310 (51.7%) negativos no exame post-mortem encontrados nos resultados de matadouro de Maputo, não pode ser descartada. Pois, a ausência da resposta celular nos animais infectados ocorre em particular quando a carga bacteriana é alta (McNAIR *et al.*, 2010), que ocorre quando a evolução da doença já está avançada. O uso de testes macroscópico como única ferramenta para o diagnóstico da tuberculose bovina, pode não detectar todos os animais infectados (LIEBANA *et al.*, 2008), permitindo então distribuição da carne infectada por *M. bovis* dos matadouros para os consumidores.

4.2. Mapeamento da prevalência da Tuberculose bovina em função da Proveniência dos animais a partir de exame Histopatológico

Os resultados das análises histopatológicas, foram agrupados em três faixas etárias (>12 a ≤24, >24 a ≤36 e >36 meses), sexo (Macho e Fêmea) e origem geográfica (Magude, Moamba, Namaancha e Matutuine), para possibilitar uma melhor interpretação de acordo com os objectivos deste trabalho, (Tabela 2).

Das amostras provenientes dos animais dos distritos de Namaancha e Matutuine não foi observada diferença significativa na prevalência da bTB 10(12.4%) e 11(12.2%) respectivamente, porém, os dois distritos apresentaram diferença significativa com relação aos distritos de Magude e Moamba com 41(28.9%) e 64(22.6%). Estes resultados permitem classificar a região de Maputo como sendo de estabilidade e instabilidade enzoótica em função da localização geográfica dos animais dentro da mesma área de estudo.

A existência de distritos na região de estudo (Maputo) com instabilidade enzoótica de bTB no presente trabalho, mostra que a taxa de prevalência de *M. bovis* para os animais não é homogénea na região de estudo.

O distrito de Magude apresentou maior índice de prevalência da tuberculose bovina 41 (28.9%), seguida de Moamba com 64 (22.6%) favorecendo desta forma a hipótese alternativa, (Tabela 4). Em função destes resultados é extremamente preocupante o alto índice da tuberculose bovina encontrado em manadas provenientes dos dois distritos (Magude e Moamba), principalmente por se tratar de animais de corte. Pois esta realidade constitui uma ameaça à saúde pública, visto que estes distritos demandam maior agregação de gado da província de Maputo e principais fornecedores aos matadouros da província.

Segundo TEMBUE (2012), a não obrigatoriedade de apresentação de exames positivos e negativos da tuberculose bovina aos fornecedores de gado (criadores), é um facto preocupante, uma vez que nessas zonas os abates e comércio sem a inspecção sanitária pode estar acontecer, perpetuando dessa forma a disseminação da carne infectada por *M. bovis* aos consumidores.

MAXLHUZA *et al.* (2014), aliam o facto de maior prevalência da tuberculose bovina, ao histórico de aquisição de bovinos sem o conhecimento da situação sanitária dos mesmos, justificando que o maior índice de infecções em áreas livres deve se ao facto de aquisição de animais infectados.

Outro facto, os resultados encontrados neste trabalho sobre maior ocorrência da bTB nos distritos de Magude e Moamba são fundamentados por DE MATOS (2008), ao encontrar que nas áreas livres a maior prevalência é justificado pela presença de maior número de criadores familiares que durante a pastagem do gado se fazem acompanhar com cães reservatórios intermediários de bacilos da tuberculose bovina, facto este que pode constituir o foco das infecções por *M.bovis* e servindo como potenciais disseminadores da mesma.

Com relação às faixas etárias maiores que vinte e quatro meses (>24 a ≤ 36 e >36) não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas províncias de Magude, Namaancha e Matutuine excepto o distrito de Moamba que apresentou menor taxa de prevalência de infecções 18 (24.3%) dos animais com maior de vinte e quatro meses e menor ou igual a trinta e seis meses (>24 a ≤ 36). Os resultados histopatológicos que apresentaram significância no teste qui-quadrado foram analisados na regressão logística multivariada de forma categorizada (negativa=0 e positiva=1). Neste modelo foram incluídas todas faixas etárias e a origem geográfica das amostras.

Neste estudo, a baixa taxa de prevalência de infecções dos bovinos jovens com maior de dose meses e menor de vinte e quatro (>12 a ≤ 24) meses de idade em todos distritos estudados

13(15.9%); 25(15.2%); 3(6.3%) e 5(9.3%) respectivamente, está provavelmente relacionado com a janela imunológica entre a imunidade passiva e o desenvolvimento da imunidade adquirida pelos animais desta idade.

Segundo JONSSON *et al.* (2008), apontam que a baixa prevalência de infecções por *M. bovis* dos animais em crescimento na faixa etária de 12 a 24 meses de idade, tem a ver com a protecção dos mesmos por anticorpos colostrais (Imunidade passiva), permitindo assim o desenvolvimento da imunidade activa sem manifestar os sinais clínicos da doença. TEMBUE *et al.* (2011), fundamenta que a idade é a condição considerada importante em estudos histopatológicos que pode mascarar os resultados e induzir a uma interpretação irónica do verdadeiro *status* imunológico de rebanho bovino de uma determinada região corroborando com os resultados encontrados neste estudo.

Quando os resultados foram avaliados em função do sexo, as amostras de 143 Fêmeas e 457 Machos, os exames não mostraram diferenças significativas no teste X^2 nos animais dos distritos estudados, (Tabela 4).

Tabela 4. Prevalência da Tuberculose Bovina em função da proveniência dos animais a partir de exame histopatológico

Variáveis	Magude			Moamba			Namaancha			Matutuine		
	N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
Prevalência	142	41	28.9	283	64	22.6	81	10	12.4	99	11	12.2
>12a≤24	82	13	15.9 ^a	164	25	15.2 ^a	48	3	6.3 ^a	54	5	9.3 ^a
>24a≤36	34	16	47.1 ^b	74	18	24.3 ^{ab}	19	4	21.1 ^b	30	4	13.4 ^b
>36	26	12	46.7 ^b	45	21	46.7 ^b	14	3	21.4 ^b	15	2	13.3 ^b
Sexo												
Fêmeas	34	10	29.4 ^a	65	15	23.1 ^a	19	2	10.5 ^a	26	3	11.5 ^a
Machos	108	31	28.7 ^a	218	49	22.5 ^a	62	8	12.9 ^b	73	8	11.0 ^a

N- Número total de amostras testadas; **n**-número de amostras positivas para bTB; **%**- índice de prevalência da bTB; * valores da mesma coluna seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas entre os valores estudados pelo teste X^2 ou Exacto de Fisher em nível de 5% de confiança.

Observando os resultados reflectidos na tabela 4, é possível notar que os mesmos foram discordantes na detecção de infecção por *M. bovis*. Das 290 (48.4%) amostras das lesões sugestivas da bTB, consideradas positivas no exame macroscópico, 126 amostras foram

confirmadas pelo exame histopatológico corado em HE. Em 164 (29.4%) as lesões macroscópicas semelhantes à tuberculose encontradas nos linfonodos, não se confirmaram no exame histopatológico. Segundo ASSUNÇÃO (2013), este resultado discordante pode ser explicada pela ocorrência de lesões granulomatosas determinadas por outras etiologias, com características macroscópicas indiferenciáveis da tuberculose, como o linfossarcoma e linfadenites inespecíficas.

Sustenta ainda MEDEIROS *et al.* (2012), que além do explicado pela ASSUNÇÃO (2013), o facto de nem todas as lesões macroscópicas terem sido confirmadas no exame histopatológico HE pode estar relacionado com a subjectividade no julgamento das mesmas. Por esta razão, a inspecção sanitária das carcaças deve ser realizada de forma criteriosa, por profissionais bem treinados, para diminuir o risco de alimentos duvidosos chegarem à mesa dos consumidores, ou ainda, segundo ANDRADE *et al.* (2016), a real etiologia e prevalência de lesões granulomatosas não-tuberculosas, requerem ampla atenção por representarem motivo de condenação desnecessária de carcaças, e muitas vezes induzirem ao erro durante os procedimentos de inspecção.

FURIANETO *et al.* (2012), sustenta ainda que as alterações histológicas encontradas em 126 carcaças encontradas neste trabalho à semelhança do seu estudo, podem ser justificadas pelos diferentes estágios de evolução da infecção. A resposta imune é diferente em infecções recentes e avançadas, o que suporta a identificação entre os animais cronicamente ou recentemente infectados.

Os autores supracitados em um estudo sobre a prevalência de *M. bovis* em matadouro da Machava empregaram o exame histopatológico e outros testes complementares para identificação dos estágios da fisiopatologia de tuberculose, e concluíram que nem todos os animais doentes de um rebanho encontram-se na mesma fase de infecção. Contudo, de acordo com o encontrado no presente estudo, mostra que o uso combinado dos métodos de diagnóstico (macroscópico e histopatológico), possibilita ter uma visão geral da infecção e um resultado conciso da prevalência da tuberculose bovina nos animais abatidos nos matadouros. Porém, estas informações podem ser usadas para definir medidas delineadas para o desenvolvimento de programas nacionais de monitoramento e vigilância epidemiológica como medidas de profilaxia e control preventivo da *Mycobacterium bovis*, uma vez que esta doença é responsável pela condenação progressiva e massiva de carcaças nos matadouros.

Por outro lado, os resultados deste trabalho, mostram a necessidade de implementação de programas de diagnóstico da tuberculose bovina que vão desde o produtor até ao matadouro, sempre envolvendo os mais diversos níveis de profissionais incluindo a educação sanitária nos criadores do sector familiar como principais fornecedores de animais aos matadouros da província de Maputo.

5. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

5.1. Conclusões

Com nos resultados observados no presente estudo, conclui-se que:

- ❖ Dos 290 animais que apresentaram algum tipo de lesão, 144 (24.3%) dos animais apresentaram lesões sugestivas da Btb, grande parte nos linfonodos mediastínicos, seguido de 76 (12.7%) nos pulmões e 42 (7.1%) no fígado.
- ❖ O Distrito de Magde foi o que apresentou maior índice de prevalência da tuberculose bovina 41 (28.9%), seguida de Moamba com 64 (22.6%).

5.2. Recomendações

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, torna-se necessário a realização de novos estudos da prevalência da tuberculose bovina usando outros métodos complementares de diagnóstico em matadouros de Maputo afim de se apurar a real situação epidemiológica de modo a evitar condenações desnecessárias de carcaças assim como estancar os deslizes na identificação de carcaças suspeitas que podem constituir um perigo na vida do consumidor.

Que sejam direccionadas as pesquisas à avaliação da prevalência da tuberculose bovina nos potenciais fornecedores de gado usando outros métodos de diagnósticos aos usados neste trabalho com vista a comparar com os resultados obtidos neste trabalho e evitar perdas económicas nas explorações pecuárias.

Que se crie programas com acções educativas direccionadas aos criadores sobre epidemiologia da doença, factores que determinam a sua propagação afim de se estancar o alastramento da doença entre os animais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, P. ROMERO, B. Tuberculosis Epidemiology in Islands: Insularity, Hosts and Trade, 2016.

ARAUJO, C. P.; LEITE, C. Q. F.; JORGE, K. S. G.; OSORIO, A. L. A. R. Identificação pela PCR de *Mycobacterium bovis* a partir do cultivo de lesões sugestivas de tuberculose bovina oriundas de matadouros- frigorificos em Mato Grosso de Sul, Brasil. V. 100, n. 7, p. 1-4, 2005.

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Volumen 1: bacteriosis y micosis. Organización Panamericana de La Salud. 3 ed. Washington, 2003. (Publicación Científica, 580).

ADAMS, M.; MOTARJEMI, Y. Perigos associados a diferentes alimentos e seu controle: Carne Vermelha, aves domésticas e seus derivados. Segurança Básica dos Alimentos para Profissionais de Saúde. São Paulo: Ed. Roca, cap. 04. p. 47-57, 2002.

ABRAHÃO, REGINA MAURA CABRAL DE MELO. Tuberculose Humana Causada Pelo *Mycobacterium bovis*: Considerações Gerais e a Importância Dos Reservatórios Animais. Archives Of Veterinary Science, São Paulo, v. 4, n. 1, p.5- 15, 2018.

AMENI, G.; ERIHN, A. Bovine tuberculosis on small-scale dairy farms in Adama Town, central Ethiopia, and farmer awareness of the disease. Revue scientifique et technique. 2007.

AMENI, G. TADESSE, K. HAILU, E. DERESSE, Y. MEDHIN, G. ASEFFA, A. HEWINSON, G. VORDERMEIER, M. BERG, S. Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* between farmers and cattle in central Ethiopia. 2017.

ASSUNCAO, S.; COUSINS, D.; BRINKMAN, J.; ARANAZ, A.; B.M.A. Genomic deletions suggest a phylogeny for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. 2013.

ATIADAVE, I. A. S.; MELO, H. P. C.; CÂMARA, A.; DIAS, R. V. C.; SOTO-BLANCO, B. Prevalência de tuberculose no rebanho bovino de Mossoró, Rio Grande do Norte. Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci, v. 44, n. 6, p. 395-400, 2014.

AWAH NDUKUM, J.; KUDI, A. C. BRADLEY, G. Prevalence of bovine tuberculosis in abattoir of the littoral and western highland regions of Cameroon, 2010.

AWARDS, S.R; OLIVEIRA, E. M. D. D.; RODRIGUEZ. Comparison of tree decontamination methods for *Mycobacterium bovis* isolation, 2007.

BIFFA, D.; SKJERVE, E.; OLOYA, J.; BOGALE, F.; DAHLE, U. Molecular characterization of *Mycobacterium bovis* isolates from Ethiopian cattle. 2010.

BROSCH, R.; GORDON, S. V.; MARMIESSE, M.; BRODIN, P.; BUCHRIESER, C.; EIGLMEIR, K.; GARNIER, T.; GUTIERREZ, C.; HEWINSON, G.; KREMER, K.; PARSONS, L. M.; COLE, S. T. A. New evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Proceedings of the national Academy of sciences of the United States of America*, v. 99, n. 6, p. 3684-3699, 2012.

BROOKS-POLLOCK, E., KEELING. M. Herdsize and bovine tuberculosis persistence in cattle farms in great Britain. *Preventive veterinary medicine*, v. 92, n. 4, p. 360-365, 2009.

CASSIDY, C.; TURENNE, C.; BEHR, M. A.; DRANCOURT, M. Genotyping of *Mycobacterium avium* complex organisms using multispacer sequence typing, 2016.

CASTRO, L. ROESS, A. A. MEKONNEN, Y. T. MELAKU, S. K. NICHTER, M. SALMAN, M. zoonotic tuberculosis in Africa: challenges and ways forward. *The lancet*, 2009.

CORNER, L. A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle, 1994.

CORREA, W. M.; C. N. M. Tuberculose. *Enfermidades infecciosas dos mamiferos domesticos*, 2ª Ed. Rio de Janeiro, p. 317-337.; 2006.

CORREA, L. ROESS, A. A. MEKONNEN, Y. T. MELAKU, S. K. NICHTER, M. SALMAN, M. Zoonotic tuberculosis in Africa: challenges and ways forward. *The lancet*, 2008.

COSIVI, O.; MESLIN, F. X.; DABORN, C. J.; GRANGE, J. M. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans, with particular reference to Africa, 2014.

CORNER, L.A. Post-mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. *Vet. Microbiol.*, v.40, p.53-63, 2014.

CORNER, L. A. Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle, 1994.

COSIVI, O.; MESLIN, F. X.; DABORN, C. J.; GRANGE, J. M. Epidemiology of Mycobacterium bovis infection in animals and humans, with particular reference to Africa, 2015.

COSIVI, O.; MESLIN, F. X.; DABORN, C. J.; GRANGE, J. M. Epidemiology of Mycobacterium bovis infection in animals and humans, with particular reference to Africa, 2018.

CLESVEIAND; S. LAURENSEN, M. K.; TAYLOR, L. H. Diseases of humans and their domestic mammals: pathogen characteristic host range and the risk of emergence. Philosophical transactions of the royal society of London. Series B, Biological Sciences, v. 356, n. 1411, p. 991-9, 2011.

DE GARINE-WICHATITSK, E.L.; DOMINGOS, M.; ALBUQUERQUE, T.; AMADO, A.; BOTELHO, A. Transmissão DA Tuberculose bovina entre espécies domésticas e silvestres em Portugal. 2010.

EISENSTADT, J.; HALL, G. S. Microbiology and classification of Mycobacterium. Clinical dermatology, v.13, n. 3, p. 197-206, 2015.

FURLANETTO, J. O.; JUKO, V.H. Epidemiology of infection by Mycobacterium tuberculosis, 2012.

FAO. Animal feed resources for small-scale livestock producers, 2018.

FRANGUAS, S.; MACIAS, A.; SHIMIZU, E. PAOLICCI. Association between spoligotype-VNTR types and virulence of Mycobacterium bovis in cattle virulence, v. 5, n.2, p. 297-302, 15 de Fevereiro. 2008.

GANGE, J. E. YATES, G. N. Genomic insights into tuberculosis, Nature Reviews genetics, v. 15 in. 5. P. 307-320, 25 de Maio de 2007.

GOMO, L.B.; MERHY, E.E. Compreendendo a Educação Popular em Saúde: um estudo na literatura brasileira. Revisão. Cad. Saúde Pública. v.27, n.1, p.7-18, 2011.

MTSHALIC.Y.; MORATO, F.; DE SOUZA, G. O. Influence of the incubation conditions on culture media to optimize primary isolation of Mycobacterium, 2007.

JUNIOR, R. R.; SOUSA, T. K. Isolation of Mycobacterium species from raw milk of pastoral cattle of the Southern highlands of Tanzania, 2018.

LAGE, A.P.; ROXO, E.; MULLER, E.E.; POESTER, F.P. Programa nacional de controlo e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). MINAG, 2006.

PACHECO, S. M.; ROCHA, V. C. M.; HIGINO, S. S. S.; BATISTA, C. S. A.; ALVES, C. J.; CLEMENTINO, I. J.; AZEVEDO, S. S. Tuberculose bovina no estado da Paraíba: estudo retrospectivo. *Pesq. Vet. Bras.*, v.30, n.9, p. 712-716, 2009.

LILENBAUM, L. Z. M. A molecular epidemiological and genetics diversity study of tuberculosis in Ibadan, Nigeria, 2008.

HAAGSMA, J. Bovine tuberculosis. Office international des Epizooties, p. 11, 2011.

SKUCE, R. A.; ALLEN, A. R.; MCDOWELL, S. W. J. Herd- level risk factors for bovine tuberculosis: a literature review. *Veterinary medicine international*, p. 621210, 2012.

JORGE, S.; COUSINS, D.; BRINKMAN. J.; ARANAZ, A.; B.M.A. Genomic deletions suggest a phylogeny for the mycobaterium tuberculosis complex. 2001.

KATALE, B. Z.; MBUGI, E. V.; KARIMURIBO, E. B.; KEYYU, J. D. KENDAU, S.; KIBIKI, G. S.; GODFREY- FAUSSETT, P.; MICHEL, A. L.; KAZWALA, R. R.; VAN HELDEN, P.; MATEZ, M. I. Prevalence and risk factors for infection of bovine tuberculosis in indigenous cattle in the Serengeti ecosystem, Tanzania. *BMC Veterinary research*, n. 9, p. 267- 746, 2013.

KANTOR, I. N.; RITACCO, V. Bovine tuberculosis in Latin America and Caribbean: current status, control and eradication programs. *Vet. Microbiol.*, v.11, n. 1-2, p.5-14, 2006.

KONEMAN, R. R. Isolation of Mycobaterium species from kaw milk of pastoral cattle of the Southern highlands of Tanzania, 2014.

LINS, N. L.; JAJA, I.F.; NWODO, U.U.; OKOH, A. I. GREEN, E. Prevalence of tuberculosis Lymphadenitis in slaughtered cattle in eastern cape, South Africa, 2010.

MARTINS T. M.; PEDRO, O. C.; CALDEIRA, R. A.; DO ROSARIO, V. E.; NEVES, L.; DOMINGOS, A. Detection of bovine tuberculosis im Mozambique by a novel seminested hot-start PCR method. *Veterinary Parasitology*, v. 153, n. 3-4, p. 225-230, 2008.

MACHADO, A. Mapping of the distribution fo Mycobacterium bovis strains involved in bovine tuberculosis in Mozambique, 2015.

MACUCULE, B. Study of the prevalence of bovine tuberculosis in Guvuro District, Inhambane Province, Mozambique, 2009. University of Pretoria, 2009.

MANFRED, S.; COUSINS, D.; BRINKMAN, J.; ARANAZ, A.; B.M.A. Genomic deletions suggest a phylogeny for the mycobacterium tuberculosis complex. 2014.

MARTIN-CASABONA, N.A.R.; PEREIRA, M.F. Non-tuberculosis Mycobacteria: patterns of isolation, 2004.

MAXLHUZA, G.; PONDJA, A. FAFETINE, J.; MACUCULE, B. ZACARIAS M.; MANGUELE, J. MOIANE, I.C. ; HELDEN, P.; MACHADO, A. Bovine tuberculosis and brucellosis in cattle and African Buffalo in the Limpopo National Park, Mozambique, v. 62, n. 6, p. 632-638, 2014.

Mc NAIR, L. GEY VAN PITTIUS, N. C.; VAN HELDEN, P. D. Mycobacteria and disease in Southern Africa, 2013.

MEDEIROS, L. S.; MAKASSI, C. D. POTENCIAL Application of new diagnostic methods for controlling bovine tuberculosis in Brazil, 2009.

MEDEIROS, L. MAKASSI, C. D.; DUARTE, R. S.; DA SILVA, M.G. Comparison of decontamination methods bovine tissues, 2010.

MICHEL, A.L.; MULLER, B.; VAN HELDEN, P.D. Mycobacterium bovis at the animal-human interface, v.140, n.3-4, p. 371-381, 2010.

MINAG. Ministerio de Agricultura e Desenvolvimento Rural. Programa de controlo e Erradicação da Tuberculose bovina, 2015.

MENDES, A.M. A criação de serviços pecuários em Moçambique. P. 167-177, 2004.

MIRANDA, L. ROESS, A. A. MEKONNEN, Y. T. MELAKU, S. K. NICTER, M. SALMAN, M. zoonotic tuberculosis in Africa: challenges and ways forward. The lancet, 2018.

MOIANE, I.; MACHADO, A.; SANTOS, N.; NHAMBIR, A.; INLAMEA, O. Prevalence of bovine tuberculosis and risk factor assessment in cattle in rural livestock areas of Govuro district in the Southeast of Mozambique, 2014.

MORRAIS, Y. F.; WONG, Y. L.; TAN, J.L. Identification of new genomic species in the Mycobacterium terrae complex. 2015.

MORRIS, R. S.; PFEIFFER, D. U.; JACKSON, R. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections. 2007.

MORRISON, F.; BOSCHIROLI, M.L.; THOREL, M.F.; GUILLOTEAU, L. A. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium-inhacellulare* complex (MAC), 2010.

MUCAVELE, C. Diversidade genética de estirpes de *Mycobacterium tuberculosis* em pacientes com tuberculose nos distritos de Buzi e Manhiça, em Moçambique, 2008.

MULLER, B. DURRIS. ALONSO, S.; HATTENDOKF, J.; LAISSE, C.J.M. Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humanans. P. 899-908, 2013.

MUNYEME.M.; MUMA, J. B.; MUMANG ANDU. H. M.; KANKYA. C. Cattle owners awareness of bovine tuberculosis is high and low prevalence settings of wildlife-livestock interface areas in Zambia. V.6.n.1, 21 Abr. 2010.

MONAGHAN, M. L.; DOHERTEY, M. L.; COLLINS, J. D.; KAZDA, J. F.; QUINN, P. J. The tuberculin test veterinary microbiology, v. 40, p. 111-124, 2004.

NDOU, N.; HLOKWE, T.M. Non- Tuberculosis *Mycobacteria* in South African Wildlife Neglected Pathogens and Potential impediments for bovine tuberculosis diagnosis, 2010.

NEILL, S. D.; POLLOCK, J. M.; BRYSON, D. B.; HANNA, J. Pathogenesis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. Veterinary microbiology, v. 40, n. 1-2, p. 41-52, 2010.

OLMSTEAD, S.; RHDE, A.; SHIMIZU, E. PAOLICCI. Association between spoligotype-VNTR types and virulence of *Mycobacterium bovis* in cattle virulence, v. 5, n.2, p. 297-302, 15 de Fevereiro. 2014.

OREILLY, L. M.; DABORN, C.J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review tubercle and lung disease, v.76,p.1-46, 1 ago. 2015.

OIE. World Organisation for Animal Health. Bovine Tuberculosis 2009.

OIE. World Organisation for Animal Health. Bovine Tuberculosis 2019.

PEDSA, PROGRAMA NACIONAL DE EMPONDERAMENTO E DESENVOLVIMENTO AGRARIO. Ministerio de agricultura e desenvolvimento rural, 2015.

PINHO, N.; RUTTEN, V. GEY VAN PITTIUS, N.C. MICHEL, A. Prevalence and distribution of non-tuberculosis mycobacteria in cattle, 2002.

POLLOCK, E., KEILL. M. Herdsize and bovine tuberculosis persistence in cattle farms in great Britain. Preventive veterinary medicine, v. 92, n. 4, p. 360-365, 2007.

USABIAGA, J. Brucellosis and bovine tuberculosis: control or elimination? In: inter-american meeting, at the ministerial level, on health and agriculture, 12., 2001, São Paulo, Brazil. Proceedings. São Paulo: PHO, 2001.

URQUHART, S.R; OLIVEIRA, E. M. D. D.; RODRIGUEZ. Comparison of tree decontamination methods for *Mycobacterium bovis* isolation, 2014.

REVIRIEGO GORDEJO, A. L.L.; VERMEERSCH, G. H.; COOPER, D. JOOSTE, J. Approaches towards optimising the gamma interferon assay for diagnosing *Mycobacterium bovis* infection in Africa buffalo, 2006.

REIS.C.Y.; MORATO, F.; DE SOUZA, G. O. Influence of the incubation conditions on culture media to optimize primary isolation of *Mycobacterium*, 2012.

RODRIGUES. M. A; PEREIRA, A. M. Causas de condenação de carcaças e órgãos de bovinos em frigoríficos sob serviço de inspeção federal no estado do Maranhão: tendência histórica e perdas econômicas. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2020.

RODWEL, T.C.; KRIEK, N. P. BENGIS, R. G.; WHYTE, I. J.; VILJOEN, P.C. DE VOS; BOYCE, W.M. prevalence of bovine tuberculosis in African Buffalo et Kruger national park. Journal of wild life diseases association, v. 37, n. 2. P. 258- 204, 2011.

ROXO, E. Situação Atual da Tuberculose Bovina no Brasil. Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose Animal. Secretaria de Defesa Agropecuária. Docum. PNCE bovine tuberculosis DDD2005, São Paulo, p. 1-5. 2016.

ROXO, E. M. *bovis* como causa de Zoonoses. Rev. Ciênc. Farm., v.18, n.1. 2007.

RODOSTITIS, A. L.; MIRANDA, R. B.J. SACOOR, C. V. S. Tuberculosis on the rise in Southern Mozambique (1997-2012). European respiratory Journal, v.49, n.3, p.16, 22 de Março. 2011.

ROMERO, N.; HLOKWE, T.M. Non- Tuberculosis Mycobacteria in South African Wildlife Neglected Pathogens and Potential impediments for bovine tuberculosis diagnosis, 2006.

SAIBU, E.; DONADO, P.; JORI, F.; CARON, A.; GOUTARD, F.; ROGER, F. Risk analysis and bovine tuberculosis, a re-emerging zoonosis animals of the new york academy of sciences, 2015.

SANTA CATAINA, Companhia Integradada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC). Inspeção de produtos de origem animal. 2020.

SANTOS A. L. Q.; LIMA-RIBEIRO A. M. C.; PEREIRA, P. C. Teste de tuberculização em Veado catiungueiro *Mazama gomazoubira* Fisher. 1814 (*Artiodactyla: Cervidae*), Arquivos do instituto Biologico, v. 76, n. 4, p. 693-696, 2009.

SMITH, N.H.; GORDON, S. V.; DE LA RUA- DOMENECH, R.; CLIFTON- HADLEY, R. S.; HEWINSON, G. BOTTLENECK AND BROOMSTICKS: The molecular evolution of *Mycobacterium bovis*. *Nature*, v. 4, p. 670- 681, 2006.

SOUSA A. V.; RIBEIRO R. M. P.; OLIVEIRA A. A importancia da tuberculose bovina como zoonose. *Higiene alimentar*, v. 13, n. 59, p. 22-27, 2008.

SOUZA, D. R.; NUNES, L. R.; SANTOS, N. B. L.; FERRÃO, I. S.; PEREIRA, M. M.; FREITAS, M. A.; MATARAZZO, S. V. Perfil tecnológico de sistemas de produção de leite resfriado. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.*, v.13, n.1, p. 01-12, 2018.

TEMBUE, N. L.; JAJA, I.F.; NWODO, U.U.; OKOH, A. I. GREEN, E. Prevalence of tuberculosis Lymphadenitis in slaughtered cattle in eastern cape, South Africa, 2012.

THOEN. O. C.; STEELE, J. H.; GILSDORF, M. J. *Mycobacterium bovis* infection in animals and humans 2a ed, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 6a Edição: São Paulo. Artimed Editora SA, 2010.

TUNNER, M.; INLAMEIA, O. MICHAEL, A. MAXLHUZA, G.; PONDJA, A. FAFETINE, J.; MACUCULE, B.; ZACARIAS, M.; MANGUELE, J.; MOIANE, I. C.; HELDEN, P.; MACHADO, A. Bovine tuberculosis and brucellosis in cattle in African buffalo in the limpopo national park, Mozambique *diseases*, v. 62, n. 6, p. 632-638, 2014.

VENDRAME, F. B.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; TELES, E. O.; GRISI-FILHO, J. H. et al. Epidemiologic characterization of bovine tuberculosis in the State of Rondônia, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 37, n. 5, p. 3639-3646, 2016.

VITALE, F.; CAPRA, G.; MAXIA, L.; REALES, S.; VESCO, G. CARACAPPA, S. Detection of Mycobacterium tuberculosis complex in cattle by PCR using milk, lymph node aspirates and nasal swabs. Journal of clinical microbiology. V. 36, n. 4, p. 1050-1055, 2013.

VARELLO, N.C.; SAMPSON, S.L. Evolution and expansion of the Mycobacterium tuberculosis, 2008.

VIEGAS, S. O.; MACHADO, A.; GROENHET, R.; GHEBREMICHAEL, S.; PENHAG, A.; GUDO, P. S.; CUNA, Z.; MIOTTO, P.; HILL, V.; MARRUFO, T.; CIRILLO, D. M.; RASTOGI, N. Molecular diversity of Mycobacterium tuberculosis isolates from Patients with pulmonary tuberculosis in Mozambique. BMC Microbiology, v. 10, p. 195, 2010.

WARDS, Y. F.; WONG, Y. L.; TAN, J.L. Identification of new genome species in the Mycobacterium terrae complex. 2007.

WARREN, C.N.; CORRÊA, W.M. Tuberculose humana por bacilo bovino em São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol. São Paulo, v.43, p.131-134, 2006.

WHO. Global tuberculosis report 2016. GENEBRA, SUIÇA, p. 214, 2017.

WELSH, M. D.; CUNNINGHAM, R. T. CORBETT, D. M. GIRVIN, R. M.; McNAIR, J.; SKUCE, R. A. BRYSON, G.; POLLOCK, J. M. Influence of pathological progression on the balance between cellular and humoral Immune responses in bovine tuberculosis. Immunology, v, 114, p. 101-111, 2005.

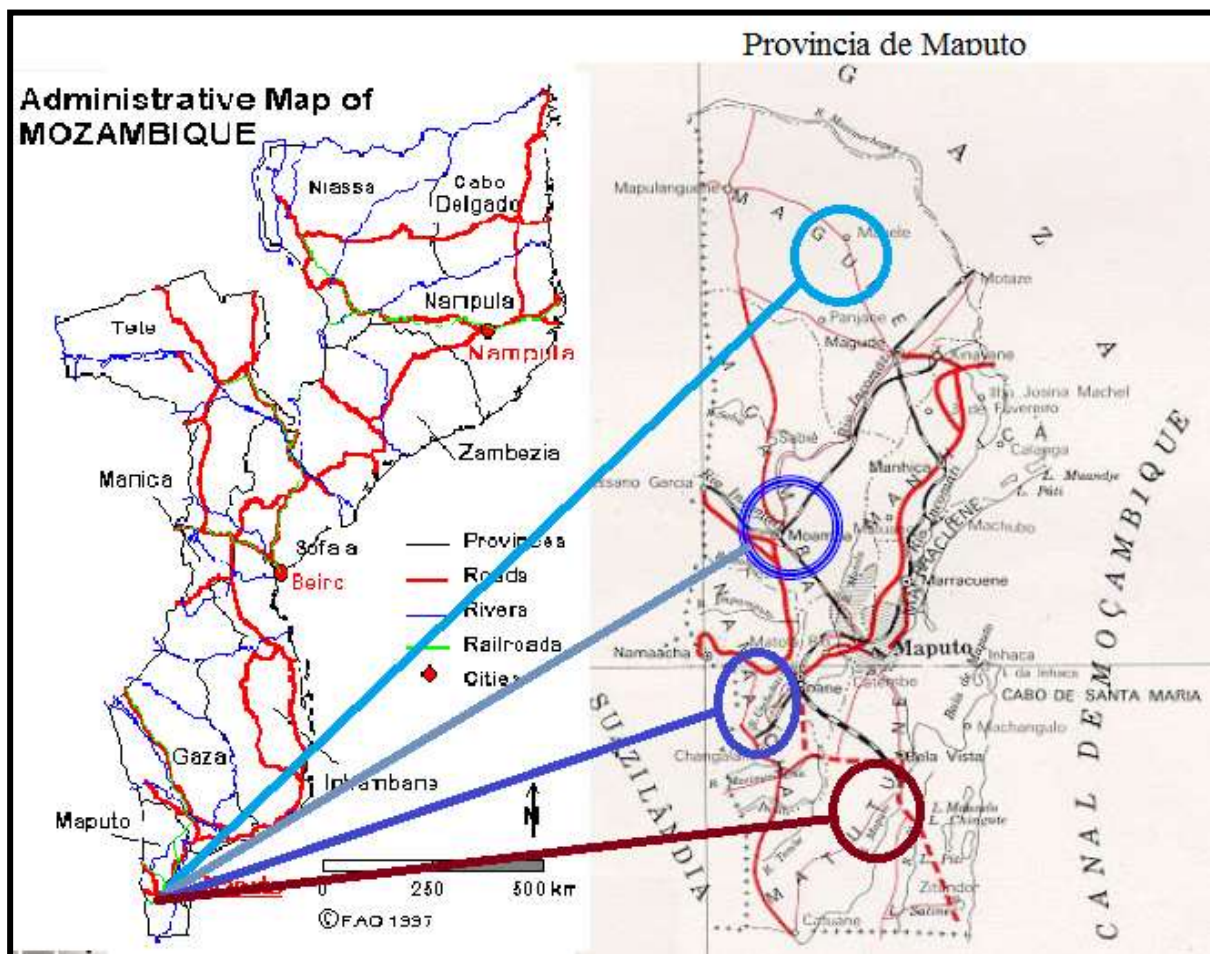
WETER, L. C. M.; VALE, S. M. L. R.; BRAGA, M. J. Determinantes do uso de medidas sanitárias de controle da brucelose e tuberculose Bovinas. Rev. Econ. Sociol. Rural, Piracicaba, SP, v.49, n.1, p.215-232, 2011.

WILTON, P. J.; COUSIN, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C.; Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed, p. 512, 1992.

USABIAGA, L. M.; DABORN, C.J. The epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in animals and man: A review tubercle and lung disease, v.76,p.1-46, 1 ago. 2001.

Apêndices

Apêndice 1: Mapa da localização da área de estudo.



Mapa indicando as zonas de origem do gado estudo (Fonte autora, 2021)

Apêndice 3. Lesões sugestivas da Tuberculose Bovina em função da região anatômica do animal (Fonte Autora, 2021)

Variáveis	N	L. Mediastinico		Cabeça		Pulmão		Fígado		Carcaça		Localizada		Generalizada	
		n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
prevalência	600	144	24.1	13	2.2	76	12.7	42	7.1	7	1.2	281	46.8	9	1.5
idade															
>12a≤24	346	78	22.5	5	1.5	52	15.1	32	9.3	2	0.6	169	48.8	1	0.3
>24a≤36	158	45	28.5	2	1.3	11	7.1	8	5.1	4	2.5	70	44.3	3	1.9
>36	96	21	21.9	6	6.3	13	13.5	2	2.1	1	1.1	43	44.8	5	5.2
sexo															
femeas	143	58	40.6	6	4.2	18	12.6	10	7.1	2	1.4	85	59.4	2	1.4
machos	457	86	18.8	7	1.5	58	12.7	32	7.1	5	1.1	197	43.1	7	1.5
Distritos															
Magude	142	67	47.2	6	4.2	23	16.2	12	8.5	1	0.7	66	46.5	2	1.4
Moamba	283	48	17.1	4	1.4	26	9.2	14	5.1	3	1.1	133	47.1	4	1.4
Namaancha	77	11	14.3	2	2.6	16	20.8	7	9.1	2	2.6	36	46.8	1	1.3
Matututuine	98	18	18.4	1	1.1	11	11.2	9	9.2	1	1.1	46	46.9	2	2.1

Apêndice 4. Mapeamento da Prevalência da tuberculose bovina em função da origem do gado (Fonte Autora, 2021)

Variáveis	Magude			Moamba			Namaancha			Matututuine		
	N	n	%	N	n	%	N	n	%	N	n	%
prevalência	142	69	48.6	283	97	34	77	27	35.1	98	35	35.7
idade												
>12a≤24	82	28	34.1	164	49	30	45	9	20.1	57	21	36.8
>24a≤36	34	23	67.6	74	32	43	20	13	65.1	26	9	34.6
>36	26	18	69.2	45	16	36	12	5	41.7	15	5	33.3
sexo												
femeas	33	16	48.5	65	22	34	18	6	33.3	23	8	34.8
machos	109	53	48.6	218	75	34	59	21	35.6	75	27	36.1

Apêndice 5. Tabelas análise estatística

Idade (L. Mediast.)

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	6.4024998	5	1.2805	10.11	0.0069
t	6.3224998	3	2.1074999	16.64	0.0026
r	.08000001	2	.04000001	0.32	0.7406
Residual	.75999995	6	.12666666		
Total	7.1624998	11	.65113634		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
e	12	0.93019	1.166	0.300	0.38208

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: e

chi2(1) = 0.00
 Prob > chi2 = 1.0000

idadelm	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
3	21.9	1.167143	A
1	22.4	1.167143	A
2	28.5	1.167143	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Idade cabeça

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	46.640001	4	11.66	8.10	0.0336
t	45.140001	2	22.57	15.67	0.0128
r	1.5000001	2	.75000006	0.52	0.6295
Residual	5.7600002	4	1.44		
Total	52.400001	8	6.5500001		

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
er	9	0.84691	2.249	1.484	0.06890

```

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
Ho: Constant variance
Variables: er

chi2(1)      =      0.00
Prob > chi2  =      1.0000

```

Idade Pulmão

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	107.54666	4	26.886666	6.82	0.0449
t	107.52	2	53.759999	13.63	0.0164
r	.02666674	2	.01333337	0.00	0.9966
Residual	15.773332	4	3.943333		
Total	123.32	8	15.415		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
erro	9	0.98304	0.249	-2.016	0.97808

```

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
Ho: Constant variance
Variables: erro

chi2(1)      =      0.00
Prob > chi2  =      1.0000

```

idadepul	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
2	7.1	.9368979	
3	13.5	.9368979	A
1	15.1	.9368979	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Idade Fígado

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	41.120004	4	10.280001	26.36	0.0039
t	38.960004	2	19.480002	49.95	0.0015
r	2.1599999	2	1.0799999	2.77	0.1759
Residual	1.5600008	4	.39000021		
Total	42.680005	8	5.3350006		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
eb	9	0.96615	0.497	-1.080	0.85996

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: eb

chi2(1) = 0.00
 Prob > chi2 = 1.0000

idadefig	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
3	4.7	.4546061	A
2	5.1	.4546061	A
1	9.3	.4546061	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Idade carcaça

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	7.7466667	4	1.9366667	2.61	0.1881
t	5.82	2	2.91	3.91	0.1143
r	1.9266667	2	.96333335	1.30	0.3682
Residual	2.9733333	4	.74333332		
Total	10.72	8	1.34		

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
em	9	0.92915	1.041	0.067	0.47333

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: em

chi2(1) = 0.00
 Prob > chi2 = 1.0000

idadecarca	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
1	.6	.5217492	A
3	1.1	.5217492	A
2	2.5	.5217492	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Idade (Localizada)

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	55.351095	4	13.837774	0.28	0.8746
t	34.722212	2	17.361106	0.36	0.7201
r	20.628884	2	10.314442	0.21	0.8175
Residual	194.6178	4	48.65445		
Total	249.9689	8	31.246112		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
ed	9	0.97273	0.401	-1.385	0.91700

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity	
Ho: Constant variance	
Variables: ed	
chi2(1)	= 0.00
Prob > chi2	= 0.9478

idadelocal	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
2	44.3	3.458056	A
3	44.3	3.458056	A
1	48.46667	3.458056	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Idade generalizada

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	37.886666	4	9.4716665	42.41	0.0016
t	37.459999	2	18.73	83.87	0.0005
r	.42666664	2	.21333332	0.96	0.4580
Residual	.89333322	4	.22333333		
Total	38.779999	8	4.8474999		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
ef	9	0.97186	0.413	-1.342	0.91017

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity	
Ho: Constant variance	
Variables: ef	
chi2(1)	= 0.00
Prob > chi2	= 1.0000

lsadegeral	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
τ			
1	.3	.2708013	
2	1.9	.2708013	
3	5.2	.2708013	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Localização (L. Mediast.)

Number of obs = 12		R-squared = 0.9675			
Root MSE = 3.43354		Adj R-squared = 0.9404			
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	2104.2276	5	420.84552	35.70	0.0002
τ	2104.2226	3	701.40754	59.50	0.0001
ε	.00500004	2	.00250002	0.00	0.9998
Residual	70.734987	6	11.789164		
Total	2174.9626	11	197.72387		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
e	12	0.91818	1.367	0.609	0.27121

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity	
Ho: Constant variance	
Variables: e	
chi2(1)	= 0.00
Prob > chi2	= 1.0000

localizlm	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
τ			
3	14.3	1.716828	A
2	17.8	1.716828	A
4	18.4	1.716828	A
1	47.2	1.716828	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Cabeça

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	15.904166	5	3.1808333	24.95	0.0006
t	15.7425	3	5.2474999	41.16	0.0002
r	.16166676	2	.08083338	0.63	0.5626
Residual	.7649998	6	.12749997		
Total	16.669166	11	1.5153787		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
er	12	0.90615	1.568	0.876	0.19038

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: er

chi2(1) = 1.79
 Prob > chi2 = 0.1806

localizlm	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
3	14.3	1.716828	A
2	17.8	1.716828	A
4	18.4	1.716828	A
1	47.2	1.716828	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Pulmão

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	263.96749	5	52.793497	28.04	0.0004
t	229.5225	3	76.507499	40.64	0.0002
r	34.44499	2	17.222495	9.15	0.0151
Residual	11.294998	6	1.8824996		
Total	275.26248	11	25.023862		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
re	12	0.96497	0.585	-1.044	0.85165

localizpul	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
2	9.7	1.380519	A
4	11.2	1.380519	AB
1	16.2	1.380519	BC
3	20.8	1.380519	C

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Fígado

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	50.167505	5	10.033501	13.76	0.0031
t	33.922503	3	11.307501	15.51	0.0031
r	16.245002	2	8.1225008	11.14	0.0096
Residual	4.3750003	6	.72916672		
Total	54.542505	11	4.9584095		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
q	12	0.92664	1.226	0.397	0.34583

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity	
Ho: Constant variance	
Variables: q	
chi2(1)	= 0.00
Prob > chi2	= 1.0000

localizfig	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
2	5.1	.9269125	A
1	8.5	.9269125	A
3	9.1	.9269125	A
4	9.2	.9269125	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Carcaca

Number of obs = 12 R-squared = 0.8939					
Root MSE = .355903 Adj R-squared = 0.8055					
Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	6.4024998	5	1.2805	10.11	0.0069
t	6.3224998	3	2.1074999	16.64	0.0026
r	.08000001	2	.04000001	0.32	0.7406
Residual	.75999995	6	.12666666		
Total	7.1624998	11	.65113634		

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
e	12	0.93019	1.166	0.300	0.38208

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: e

chi2(1) = 0.00
 Prob > chi2 = 1.0000

localizad	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
1	.7	.1870829	A
2	1.1	.1870829	A
4	1.1	.1870829	A
3	2.8	.1870829	

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Localizada

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	184.88244	5	36.976488	11.25	0.0053
t	.56249981	3	.18749994	0.06	0.9805
r	184.31994	2	92.159971	28.04	0.0009
Residual	19.719992	6	3.2866653		
Total	204.60243	11	18.600221		

Shapiro-Wilk W test for normal data

Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
er	12	0.96679	0.555	-1.148	0.87450

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity
 Ho: Constant variance
 Variables: er

chi2(1) = 0.00
 Prob > chi2 = 1.0000

localizad	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
1	46.5	2.915761	A
3	46.8	2.915761	A
4	46.9	2.915761	A
2	47.1	2.915761	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

Generalizada

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	1.7341668	5	.34683336	0.67	0.6643
t	.76916665	3	.25638888	0.49	0.7009
r	.96500014	2	.48250007	0.93	0.4464
Residual	3.1283332	6	.52138887		
Total	4.8625	11	.44204546		

Shapiro-Wilk W test for normal data					
Variable	Obs	W	V	z	Prob>z
e	12	0.93019	1.166	0.300	0.38208

Breusch-Pagan / Cook-Weisberg test for heteroskedasticity	
Ho: Constant variance	
Variables: err	
chi2(1)	= 0.05
Prob > chi2	= 0.8181

general	Mean	Std. Err.	Tukey Groups
t			
2	1.4	.4129837	A
3	1.733333	.4129837	A
1	1.866667	.4129837	A
4	2.1	.4129837	A

Note: Means sharing a letter in the group label are not significantly different at the 5% level.

ANEXOS



Anexo 1: Aspecto de animais abatidos no matadouro municipal de Maputo(Fonte Autora, 2021)



Anexo 2: A- Local cortado com lesão sugestiva da Tuberculose bovina(Fonte Autora, 2021)



Anexo 3: Fígado com lesões sugestivas da Tuberculose bovina (Fonte: Autora, 2021)



Anexo 4: Aspecto do pulmão com evidências de lesões sugestivas da Tuberculose bovina (Fonte: Autora, 2021)