BERNARDO BARBOSA ROCHA

OCORRÊNCIA DE *Mycobacterium bovis* EM QUEIJOS COALHO ARTESANAIS E FATORES ASSOCIADOS AO CONSUMO DE LEITE E DERIVADOS LÁCTEOS INFORMAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do titulo de *Magister Scientiae.*

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e Classificação da Biblioteca Central da UFV

T
R672o
2013

Rocha, Bernardo Barbosa, 1987-
Ocorrência de *Mycobacterium bovis* em queijos coalho artesanais e fatores associados ao consumo de leite e derivados lácteos informais / Bernardo Barbosa Rocha. – Viçosa, MG, 2013.
xi, 128 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.
Orientador: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Tuberculose em animais. 2. Mycobacterium bovis. 3. Mycobacterium tuberculosis. 4. Micobactérias. 5. Epidemiologia. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Veterinária. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. II. Título.

CDD 22. ed. 636.20896995

BERNARDO BARBOSA ROCHA

OCORRÊNCIA DE *Mycobacterium bovis* EM QUEIJOS COALHO ARTESANAIS E FATORES ASSOCIADOS AO CONSUMO DE LEITE E DERIVADOS LÁCTEOS INFORMAIS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do titulo de *Magister Scientiae.*

APROVADA: 05 de setembro de 2013.

Prof. Dr. Marcio Roberto Silva
(Co-orientador)

Prof. Dr. Guilherme Nunes de Souza

Prof.ª Dr.ª Paula Dias Bevilacqua
(Co-orientadora)

Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Scatamburlo Moreira
(Orientadora)

"*Como é feliz o homem que acha a sabedoria, o homem que obtém entendimento"*. Provérbios 3:13

A Deus,

Aos meus pais,

A minha irmã,

A minha namorada,

A todos que estiveram ao meu lado para que esse sonho se concretizasse.

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir que eu chegasse até aqui, por sempre guiar meus passos e pela proteção. Obrigado SENHOR pelo dom da vida, sabedoria e saúde. *"Não a nós, Senhor, nenhuma glória para nós, mas sim ao teu nome, por teu amor e por tua fidelidade." Salmos 115:1.*

Aos meus pais João Evangelista da Rocha Filho e Valéria Maria Barbosa Rocha, pelo amor incondicional, pelo intenso incentivo e por todos os esforços para que meu sonho se tornasse realidade. Essa vitória é nossa! Obrigado por sempre acreditarem nos meus sonhos. AMO VOCÊS!!! *"Honra a teu pai e a tua mãe, para que se prolonguem os teus dias na terra que o SENHOR teu Deus te dá." Êxodo 20:12*

À minha irmã Larissa Barbosa Rocha pelo carinho e atenção e, ao meu cunhado Amaury De Paula Braga Callegari pelo apoio de sempre.

À tia Ruth Barros (*in memorian*) por todo amor de mãe. Por seu carinho, atenção e ajuda.

As minhas avós Lourdes Barros Barbosa e Hércula Rizutti da Rocha (*in memorian*) pelas orações e por estarem ao meu lado em todos os momentos, me ajudando a vencer cada etapa.

Aos meus avôs João Evangelista da Rocha e Régis Barbosa (*in memorian*) por sempre me ensinarem que na vida um HOMEM precisa de cinco coisas indispensáveis: "FÉ EM DEUS, SAÚDE, CRÉDITO, AMIZADE E HONESTIDADE". A vocês que foram DOUTORES na "Escola da Vida", o meu muito obrigado!

A minha noiva e futura esposa Ariani Rodrigues Fernandes pelo amor, compreensão e por me apoiar sempre, sonhando junto comigo. *"Como és formosa, amada minha..." Cânticos 4:1. "Porque aonde quer que tu fores, irei eu; e onde quer que pousares, ali pousarei eu; o teu povo será o meu povo, o teu Deus será o meu Deus. Rute 1:16".*

À minha orientadora Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Scatamburlo Moreira pela oportunidade, confiança, troca de experiências, "puxões de orelha" e por tornar-se uma grande amiga. Essa conquista também é sua. Meus sinceros agradecimentos!!!

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcio Roberto Silva pela confiança em meu trabalho, por toda ajuda, pelos ensinamentos e por se tornar um grande amigo. Com certeza você é referência em pesquisa!!!

À Dr.ª Vania Maria de Oliveira por ser meu ponto de referência na Medicina Veterinária, pelo carinho e torcida.

Ao Prof. Dr. Guilherme Nunes de Souza pela troca de experiência e pelos bons momentos que passamos juntos na Embrapa Gado de Leite.

A minha sobrinha Júlia por cada sorriso indispensável.

Aos meus cunhados Verdinho, Luciana, Aline e Fernando pela torcida e vibrações positivas.

Ao meu sogro Hilário e minha sogra Cidinha pelo incentivo e orações.

Ao amigo Sandro Sevaroli pelo companheirismo e amizade, tornando-se um irmão.

Aos amigos Glauco Braga, Wendell Costa e Alexandrina Penna Gonçalves pela amizade e incentivo.

Aos amigos e colegas de profissão Breno Soares Camilo e Vitor Pesca Sarcinelli pelo apoio nos momentos difíceis e por tudo que vivemos e dividimos em Viçosa.

Ao Fabio, Isabel, Lucas, David, Pricila, Vítor, Pedro, Maria Alejandra, Isis, Carolina, Cristian, Monique, Valéria, Raquel, Marcus (Mococa), Luciana, Giselle, Priscila, Vivian, Ana Clara, Lincoln e Alberto, amigos e colegas do Laboratório de Doenças Bacterianas (LDBAC), Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) e do Laboratório de Reprodução, pela amizade e por todos os momentos que vivemos.

Aos amigos de Viçosa da República Fud³, da República Nabs e a todos que me acolheram de forma carinhosa em Viçosa, fazendo meus dias mais alegres e amenizando a saudade de casa.

Aos amigos do Núcleo de Assessoria, Treinamento e Estudos em Saúde da Universidade Federal de Juiz de Fora (NATES/UFJF), com os quais convivi quando cursei uma disciplina, obrigado pelo apoio e trocas de experiências.

As professoras Dr.ª Maria Teresa Bustamante Teixeira e Dr.ª Isabel Cristina Gonçalves Leite por todos os ensinamentos.

Aos professores do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa pelos ensinamentos passados.

Aos funcionários do Setor de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública do Departamento de Veterinária da Universidade Federal de Viçosa.

À Rosi e à Beth, por toda atenção e dedicação indispensáveis.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Medicina Veterinária, por fazer parte da minha formação profissional.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de mestrado, que foi fundamental para minha permanência em Viçosa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo financiamento do projeto.

À Embrapa Gado de Leite pela oportunidade na execução do projeto e por ser meu berço na pesquisa em Medicina Veterinária.

Aos funcionários da Embrapa Gado de Leite, em especial à Selma e à Margarida por toda ajuda e, aos colegas do Laboratório de Qualidade do Leite, por todo auxílio.

As estagiárias da Embrapa Gado de Leite Camila Miguel Pessoa, Nilza Oliveira e Letícia Scafutto de Faria, por toda a ajuda prestada.

Ao Instituto de Laticínios Cândido Tostes por ter cedido espaço para parte das análises, sendo fundamental para conclusão desse estudo. Em especial à Prof.ª Jaqueline Flaviana Oliveira de Sá pelas orientações e sugestões.

Ao Hospital Regional João Penido, Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (FHEMIG), por todo o apoio e suporte laboratorial; em especial ao funcionário Ronaldo Rodrigues da Costa, por toda ajuda na execução das análises microbiológicas.

Ao Laboratório Nacional de Agropecuária do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (LANAGRO), Pedro Leopoldo, Minas Gerais, pelo suporte laboratorial em biologia molecular. Agradeço ao funcionário Antônio Augusto Fonseca Júnior e à estagiária Nayara Lima, por todo cuidado e empenho nas análises das amostras.

A toda minha família que vibrou e torceu pelo meu sucesso.

A todas as pessoas, que, direta e indiretamente, contribuíram para a realização dessa dissertação de mestrado.

Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

Bernardo Barbosa Rocha, filho de João Evangelista da Rocha Filho e Valéria Maria Barbosa Rocha, nasceu em 20 de abril de 1987, na cidade de Juiz de Fora, estado de Minas Gerais.

Iniciou sua vida acadêmica no ano de 2005, no curso de Medicina Veterinária da Universidade Presidente Antônio Carlos de Juiz de Fora, concluindo o curso de Bacharel em Medicina Veterinária em dezembro de 2009. Foi estagiário de graduação da Embrapa Gado de Leite durante três anos, sob orientação do Dr. Ary Ferreira de Freitas e da Dr.ª Vania Maria de Oliveira, onde iniciou seu interesse pela pesquisa.

Em março de 2011, começou a cursar disciplinas isoladas do curso de Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Leite e Derivados da Universidade Federal de Juiz de Fora. Foi aprovado no curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Viçosa, em julho de 2011. Neste período esteve sob orientação da Prof.ª Dr.ª Maria Aparecida Scatamburlo Moreira e, em agosto de 2013 submeteu-se ao exame final da defesa da dissertação.

"Lembre-se de que você mesmo é o melhor secretário de sua tarefa, o mais eficiente propagandista de seus ideais, a mais clara demonstração de seus princípios, o mais alto padrão do ensino superior que seu espírito abraça e a mensagem viva das elevadas noções que você transmite aos outros. Não se esqueça, igualmente, de que o maior inimigo de suas realizações mais nobres, a completa ou incompleta negação do idealismo sublime que você apregoa, a nota discordante da sinfonia do bem que pretende executar, o arquiteto de suas aflições e o destruidor de suas oportunidades de elevação é você mesmo."

Francisco Cândido Xavier

SUMÁRIO

RESUMO..... viii

ABSTRACT..... x

INTRODUÇÃO GERAL..... 1

OBJETIVOS..... 3

CAPÍTULO I Tuberculose Zoonótica: Uma velha doença e novos desafios..... 4

CAPÍTULO II Prevalência e fatores associados ao consumo de leite cru em uma população de alta vulnerabilidade social no Brasil..... 58

CAPÍTULO III Prevalência e fatores associados ao consumo de queijo não pasteurizado em uma população de alta vulnerabilidade social no Brasil..... 83

CAPÍTULO IV Taxa de ocorrência de micobactérias em queijo coalho na região de Parnaíba, Piauí – Brasil..... 108

CONCLUSÕES GERAIS..... 126

ANEXO..... 128

RESUMO

ROCHA, Bernardo Barbosa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2013. **Ocorrência de *Mycobacterium bovis* em queijos coalho artesanais e fatores associados ao consumo de leite e derivados lácteos informais.** Orientadora: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira. Coorientadores: Paula Dias Bevilacqua, Luis Augusto Nero e Marcio Roberto Silva

A tuberculose zoonótica cujo agente etiológico é o *Mycobacteirum bovis* pertencente ao Complexo *Mycobacterium tuberculosis* (*M tuberculosis, M bovis, M africanum, M microti,M canettii* e *M. caprae*) causa doenças em seres humanos, bovinos e outros animais em vários países do mundo. Nos humanos, *M. bovis* pode determinar as mesmas formas clínicas dos acometimentos que *M. tuberculosis*. Antes dos programas de controle e erradicação da tuberculose bovina e do evento de pasteurização do leite, a principal forma infecciosa era a extrapulmonar com destaque para tuberculose renal nos adultos, tuberculose ganglionar em crianças, devido à via de infecção principal ser o trato gastrointestinal, sendo as principais fontes o leite e lácteos não fervidos ou não pasteurizados. Uma vez que *M. bovis* está relacionado com inúmeros casos de tuberculose em humanos, existe uma preocupação com a qualidade e a inocuidade do leite e produtos lácteos, visando prevenir ou minimizar riscos à saúde humana. Considerando-se que o Brasil é um grande país produtor de leite, a presença de *M. bovis* em rebanhos brasileiros, a importância da qualidade do leite e o potencial zoonótico associados, este estudo objetivou i) realizar uma revisão sistemática sobre a situação da tuberculose zoonótica no mundo, ii) estimar a prevalência, o consumo de leite e queijo não pasteurizados e fatores associados em uma população de alta vulnerabilidade social de Juiz de Fora, Brasil, bem como iii) avaliar a ocorrência de *M. bovis* em queijo coalho na região de Parnaiba, Piauí – Brasil. No estudo de revisão sistemática verificou-se que ainda são necessários esforços educativos direcionados a populações de alto risco para infecções por *M. bovis*, como trabalhadores que lidam com pecuária ou agroindústria de alimentos. Estes se localizam em áreas com uma agroindústria extensiva, onde a população bovina ainda está contaminada por *M. bovis*. Além disso, a disseminação do agente entre animais e seres humanos em países em desenvolvimento permanece como um perigo real, principalmente por meio do consumo de leite e derivados crus. No estudo, verificou-se que a taxa de consumo atual de leite cru e queijo feito com leite cru foi de 11,4% e 43,9%, respectivamente. As variáveis, idade, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação, local de moradia e histórico de consumo

exagerado de álcool no último ano, apresentaram-se associados ($p \leq 0,05$) ao consumo de leite cru e as variáveis local de residência, ocupação e histórico do consumo exagerado de álcool apresentaram-se associados ($p \leq 0,05$) ao consumo de queijo feito com leite cru. No estudo sobre ocorrência de *M. bovis* em queijos coalho, verificou-se uma taxa de 10% de amostras evidenciadas positivas pela técnica qRT-PCR, o que reforça a possibilidade de transmissão desse patógeno via lácteos confeccionados com leite cru. O presente estudo demonstra que a transmissão zoonótica de *M. bovis* no Brasil permanece viável, dadas as altas taxas de consumo de lácteos informais e a presença de *M. bovis* em produtos artesanais verificadas, o que deve servir de alerta às autoridades de saúde e agricultura sobre a necessidade de medidas preventivas.

ABSTRACT

ROCHA, Bernardo Barbosa, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, September, 2013. **Occurrence of *Mycobacterium bovis* in homemade coalho cheeses and factors associated with the consumption of milk and milk derivatives informal.** Adviser: Maria Aparecida Scatamburlo Moreira. Co-advisers: Paula Dias Bevilacqua, Luis Augusto Nero and Marcio Roberto Silva

The zoonotic tuberculosis whose etiologic agent is the *Mycobacteirum bovis* belonging to the *Mycobacterium tuberculosis* complex (*M. tuberculosis, M. bovis, M. africanum, M. microti, M. canettii* and *M. caprae*) causes diseases in humans, cattle and other animals in several countries of the world. In humans, *M. bovis* can determine the same clinical onsets forms that *M. tuberculosis*. Before the programs for the control and eradication of bovine tuberculosis and the event of the milk pasteurization, the main forms of zoonotic tuberculosis were the extrapulmonary with emphasis for renal tuberculosis in adults, lymph node tuberculosis in children due to the mechanism of *M. bovis* penetration throughout gastrointestinal tract, where its main sources were unboiled or unpasteurized milk and derivates. Once that *M. bovis* is related with tuberculosis cases in humans, there is a concern with assure the quality and safety of milk and dairy products, aiming to prevent or minimize risks to human health. Considering that Brazil is a great producer of milk, the bovine tuberculosis is endemic in Brazilian herds, the importance of assure the quality and safety of milk and derivates, this study aimed to i) carry out a systematic review about the situation of zoonotic tuberculosis in the world, ii) estimate the prevalence of milk and cheese informal consumption and associated factors to these comsumtion kinds in a population of high social vulnerability in Juiz de Fora, Brazil, as well as iii) to evaluate the occurrence of *M. bovis* in raw cheeses produced in the region of Parnaiba, Piaui, Brazil. In the systematic review was found that it is still recommended educational efforts directed at high-risk populations to infections caused by *M. bovis* as workers who deal with livestock and agro-food industry, particularly in areas and countries with an extensive agribusiness in which bovine population is still contaminated by *M. bovis*. In addition, the dissemination of the agent from animals to humans in developing countries remains as a real danger, mainly through the consumption of raw milk and derivates. Prevalences of raw milk and derivates consumption were of 11.4% and 43.9%, respectively. The variables, age, history of residence in a rural environment, type of dwelling, occupation, place of residence and history of excessive alcohol consumption

in the last year, were associated ($p \leq 0.05$) with the consumption of raw milk and the variables place of residence, occupation and history of excessive alcohol consumption were associated ($p \leq 0.05$) with the consumption of cheese made with raw milk. In the study to assess the occurrence of *M. bovis* in raw cheese was found a rate of 10% of positive samples evidenced by qRT-PCR, alerting for the possibility of *M. bovis* transmission throughout milk and cheeses consumed raw. The present study showed that the zoonotic role of *M. bovis* remains possible in Brazil. There were significant rates of raw milk and darivates consumption and *M. bovis* evidences in raw cheeses were verified. These findings should alert the health and agriculture authorities for the need of preventive mesures.

INTRODUÇÃO GERAL

Mycobacterium bovis é um agente do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, que causa a tuberculose animal, mas pode afetar também o ser humano, causando a tuberculose zoonótica. A sua contribuição relativa no contexto global da tuberculose humana, é provavelmente subestimada, devido, principalmente, as suas características de crescimento disgônico e lento e, a sua preferência por piruvato para crescimento primário, nutriente ausente em boa parte dos meios utilizados na rotina de diagnóstico de tuberculose.

Os principais fatores de risco associados à infecção por *M. bovis* são o contato direto com animais doentes e o consumo de leite e derivados lácteos contaminados. Esse contato não ocorre apenas nos estabelecimentos de gado leiteiro, mas pode ocorrer também em áreas periurbanas onde residem famílias de baixa renda, as quais mantêm um número mínimo de vacas produzindo leite, para sustento próprio e de vizinhos.

A correlação direta da infecção por *M. bovis* em bovinos e a tuberculose zoonótica tem sido bem documentada em países desenvolvidos, mas essa informação é escassa nas regiões em desenvolvimento. Isso tem relação com a percepção equivocada, nessas regiões em desenvolvimento, em tratar *M. bovis* como sendo um agente etiológico de uma doença exclusivamente animal. Entretanto, a tuberculose bovina é um problema de saúde pública e o conhecimento sobre a implicação da tuberculose bovina nos casos humanos tem de ser aprimorado e divulgado para o efetivo controle da própria doença em rebanhos.

Um estudo recentemente conduzido em Juiz de Fora, Minas Gerais, detectou três casos (1,5%) de tuberculose zoonótica (*M. bovis*) entre 189 pacientes que tiveram as micobactérias envolvidas caracterizadas por métodos bioquímicos e/ou moleculares de determinação da espécie. Os casos de tuberculose zoonótica evidenciados foram associados ($p \leq 0,05$) a exposições zoonóticas prévias, principalmente ao consumo de queijo artesanal feito com leite não pasteurizado.

Este fato reforçou a necessidade de maiores estudos nacionais direcionados à possibilidade de transmissão de *M. bovis* via lácteos não pasteurizados no Brasil. Então, a presente dissertação abrangeu: i) uma revisão sistemática sobre a situação da tuberculose zoonótica no mundo, ii) um estudo para estimar o consumo de leite cru e

queijo feito com leite cru em uma população de alta vulnerabilidade social e, iii) uma análise da ocorrência de *M. bovis* em queijos coalho da região de Parnaiba, Piauí.

OBJETIVOS

Considerando-se que o Brasil é um grande produtor de leite, a presença de *Mycobacterium bovis* em rebanhos brasileiros é endêmica, a importância da qualidade do leite e derivados deve ser sempre assegurada, e que algumas evidências de infecção humana por *M. bovis* foram recentemente detectadas no Brasil, este estudo teve como objetivos específicos:

• Realizar uma revisão sistemática sobre a situação da tuberculose zoonótica no mundo;

• Estimar a prevalência do consumo de leite não pasteurizado e fatores associados em uma população de alta vulnerabilidade social do Brasil;

• Estimar a prevalência do consumo de queijo não pasteurizado e fatores associados em uma população de alta vulnerabilidade social do Brasil;

• Avaliar a ocorrência de *M. bovis* em queijo coalho na região de Parnaíba Piauí – Brasil.

CAPÍTULO I

Tuberculose Zoonótica: uma velha doença e novos desafios

Zoonotic tuberculosis: an old disease and new challenges

Tuberculosis zoonótica: una enfermedad antigua y los nuevos desafios

Artigo a ser submetido ao "**Cadernos de Saúde Pública"**

ROCHA, B.B.; SILVA, M.R.; SOUZA, G.N.; MOREIRA, M.A.S.

RESUMO

No Brasil grande parte dos estudos sobre a tuberculose zoonótica refere-se à freqüência da doença nos levantamentos realizados em áreas restritas, havendo pouca disponibilidade de informações sobre sua prevalência no âmbito estadual ou federal, de sua associação com possíveis fatores de risco, assim como de sua distribuição no espaço e no tempo. Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão sistemática sobre a situação da tuberculose zoonótica no mundo, de modo que os artigos foram selecionados de 1970 a 2012 e caracterizados por região, tipo de estudo e espaço-temporal, para que se pudesse traçar um perfil dessa enfermidade que afeta seres humanos e animais. Dos trabalhos incluídos (n = 217) na revisão, 120 (55,5%) ocorreram na Europa, 44 (20,2%) na América do Norte, 16 (7,3%) na Ásia, 13 (6,0%) na América do Sul, 13 (6,0%) na África e 11 (5,0%) na Oceania. No que se refere ao período de publicação, ocorreram 34(15,6%) entre 1970 – 1980, 29 (13,3%) entre 1981 – 1990, 65 (29,8%) entre 1991 – 2000, 89 (41,3%) entre 2001-2012 dos trabalhos publicados, havendo aparentemente um aumento de ocorrências desde o primeiro até o último período. De todos os estudos, 108 (49,8%) 48 (22,1%), 41 (18,9%) foram do tipo relato de casos, revisão e transversal, respectivamente, havendo apenas 4 (1,9%) estudos de caso controle, 3 (1,4%) de coorte e, finalmente, 13 (5,9%) que se caracterizaram como exclusivamente de epidemiologia molecular.

Palavras-chave: tuberculose zoonótica, *M. bovis*, *M. tuberculosis*, infecção, epidemiologia.

ABSTRACT

Most of the studies on zoonotic tuberculosis refer to the frequency of the disease in surveys conducted in restricted areas and there are little availability of information on its prevalence within the scope of the state or federal levels, about possible risk factors, as well as their distribution in space and time. This study had as objective to carry out a systematic review about the situation of the zoonotic tuberculosis over the world, so the articles were selected from 1970 to 2012, and were characterized by region, type of study and temporal space, for that could draw a profile of this disease that affects both human and animals. Among the papers included (n = 217) in this review, 120 (55.5 %) occurred in Europe, 44 (20.2 %) in North America, 16 (7.3 %) in Asia, 13 (6.0 %) in South America, 13 (6.0 %) in Africa and 11 (5.0 %) in Oceania. In relation to the period of publication, there were 34 (15.6 %) papers between 1970 - 1980, 29 (13.3 %) between 1981 - 1990, 65 (29.8 %) between 1991 - 2000, 89 (41.3 %) between 2001-2012 of all published works, and there was apparently an increase of occurrences since the first until the last period. Of all studies, 108 (49.8 %), 48 (22.1 %), 41 (18.9 %) were case report, review and transversal types, respectively, and only 4 (1.9 %) were case-control, 3 (1.4 %) cohort and, finally, 13 (5.9 %) who were characterised as exclusively of molecular epidemiology.

Keywords: zoonotic tuberculosis, *M. bovis*, *M. tuberculosis*, infection, epidemiology.

RESUMEN

En gran parte los estudios sobre tuberculosis bovina se refiere a la frecuencia de la enfermedad en los estudios llevados a cabo en las zonas de acceso restringido, hay poca disponibilidad de información sobre su prevalencia en la estatal o federal, de su asociación con posibles factores de riesgo, así como su distribución en el espacio y el tiempo. Este estudio buscó realizar una revisión sistemática sobre el estado de tuberculoze zoonosis en el mundo, por lo que los artículos fueron seleccionados 1970 a 2012, y se caracteriza por región, tipo de estudio y la línea de tiempo, por lo que se podría llamar un perfil esta enfermedad que afecta a los seres humanos y los animales. De los estudios incluidos (n = 217) en esta revisión, 120 (55,5%) se produjeron en Europa, 44 (20,2%) en América del Norte, 16 (7,3%) en Asia, 13 (6,0%) en América del Sur, 13 (6,0%) en África y 11 (5,0%), en Oceanía. En cuanto al período de publicación, hubo 34 (15,6%) entre 1970 a 1980, 29 (13,3%) entre 1981 a 1990, 65 (29,8%) entre 1991 a 2000, 89 (41, 3%) entre 2001-2012 de los trabajos publicados, con un aparente aumento de los incidentes de lo primero a lo último período. En todos los estudios, 108 (49,8%) 48 (22,1%), 41 (18,9%) eran de tipo casos clínicos, revisión y transversal, respectivamente, con solamente 4 (1,9%) estudios de casos y controles, 3 (1,4%) de cohorte, y, finalmente, 13 (5,9%), que se caracteriza por ser exclusivamente de lo tipo epidemiología molecular.

Palabras clave: tuberculosis zoonótica, *M. bovis, M. tuberculosis*, infecciones, epidemiología.

INTRODUÇÃO

Os agentes etiológicos da tuberculose dos mamíferos pertencem ao complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), o qual engloba *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium caprae*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium canettii*, *Mycobacterium microti* e *Myobscterium caprae*. [1] O primeiro, de distribuição mundial, possui os seres humanos como reservatórios, sendo a principal causa de tuberculose humana. O segundo, também de distribuição mundial, possui os bovinos como principal reservatório natural, mas pode afetar muitos outros mamíferos, incluindo seres humanos, sendo nestes a principal causa da tuberculose zoonótica. [2]

Tanto no presente tópico da introdução como no restante desta dissertação o termo "tuberculose zoonótica" será empregado como sinônimo de tuberculose humana causada exclusivamente por *M. bovis* e "tuberculose bovina" como sinômimo da doença bovina, que é causada também pelo mesmo agente.

Em seres humanos, *M. bovis* causa lesões tuberculosas indistinguíveis das provocadas por *M. tuberculosis*, agente tipicamente humano. Embora a maioria dos casos de tuberculose humana seja causada por *M. tuberculosis*, uma parcela não bem conhecida dos casos é decorrente de *M. bovis.* [3]

Antes do advento de pasteurização do leite, *M. bovis* foi uma importante causa de tuberculose zoonótica, especialmente tuberculose intestinal em crianças. Após a adoção dessa tecnologia, a ocorrência de tuberculose zoonótica declinou significativamente. [4]

Poucos estudos representativos são publicados no mundo sobre tuberculose zoonótica. Nos últimos 50 anos, pesquisas sobre tuberculose zoonótica foram influenciadas por tendências científicas, preocupações sociais tais como o vírus da imunodeficiência humana/síndrome da imunodeficiência adquirida (HIV/AIDS) e com a segurança de alimentos, bem como pelo desenvolvimento e disponibilidade de ferramentas diagnósticas mais precisas para identificação de *M. bovis*. O desenvolvimento da reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction/PCR) e de outras ferramentas moleculares para identificar *M. bovis* e diferenciá-lo de outros membros do CMT tem permitido a descoberta de mais casos em estudos retrospectivos e tem sugerido novas formas de transmissão. [5]

A literatura médica sobre a incidência de tuberculose zoonótica é marcada por numerosas descrições clínicas de casos desse agente em nível regional ou de hospitais, mas há muito poucas investigações sistemáticas em níveis nacionais. [6,7,5]

Há três principais explicações para a falta de uma estimativa acurada da proporção de *M. bovis* na tuberculose global em seres humanos. Primeiro, por exames clínicos e radiológicos não é possível diferenciar a tuberculose humana causada por *M. tuberculosis* ou *M. bovis*. Segundo, muitos laboratórios fazem uso de meios de cultura contendo glicerol, os quais dificultam o crescimento de *M. bovis*. Além disso, o exame bacteriológico é sempre uma opção cara para muitos países em desenvolvimento se comparada à detecção direta de bacilos álcool-ácido resistentes – BAAR (baciloscopia), que é mais barata e rápida. Terceiro, e talvez o mais importante, como o tratamento de tuberculose causada por ambos os agentes geralmente é o mesmo, na maioria dos novos casos de tuberculose, não há por parte dos médicos interesse clínico em diferenciar o agente causal. [5] Entretanto, como *M. bovis* é intrinsecamente resistente à pirazinamida, droga usada no primeiro esquema de tratamento da tuberculose humana, é importante ressaltar que a diferenciação do agente zoonótico do restante do CMT traria ganhos em termos diagnósticos, principalmente quando houver evidências epidemiológicas que justifiquem a suspeita de tuberculose zoonótica, ou quando houver falhas na resposta ao tratamento com esquemas que incluem pirazinamida. [8]

Entretanto, desde que a World Health Organization (WHO) declarou a tuberculose humana como uma emergência global em 1993, ela tem se preocupado também em conhecer a importância relativa de *M. bovis* no contexto global e vem recomendando colaboração entre serviços médicos e veterinários e a ampliação das pesquisas sobre epidemiologia e controle deste agente zoonótico, principalmente em países em desenvolvimento, onde a tuberculose bovina, em geral, é negligenciada. [9,10]

A WHO reconhece que muitas questões ainda cercam a natureza e epidemiologia da tuberculose humana devida a *M. bovis*. [9,10] O agente é transmissível do gado a seres humanos diretamente por rota aerógena e indiretamente por consumo de leite e derivados não-pasteurizados, bem como por contatos com aerossóis contaminados, por exemplo, durante o abate de animais infectados.

Não está claro, entretanto, se a progressão da infecção à doença ativa ocorre tão prontamente como no caso de *M. tuberculosis*. Estudos epidemiológicos indicam que pessoas infectadas por *M. bovis* são menos susceptíveis a desenvolverem doença pós-primária (reativação) ao longo da vida que aqueles infectados por *M. tuberculosis*, mas

não está claro, se isto é resultado de diferenças na rota predominante de infecção, de uma suposta menor virulência da bactéria, ou de diferenças na susceptibilidade do hospedeiro. Doença humana primária devida a *M. bovis* é muito rara em países desenvolvidos onde a tuberculose bovina está em estágio avançado de controle, em vias de erradicação ou já erradicada, mas a doença pós-primária (reativação) é ainda encontrada, quase todos os casos sendo relatados em pessoas nascidas quando os objetivos de controle e erradicação da tuberculose bovina ainda não estavam em estágio avançado. Praticamente todos os casos de doença humana primária devida a *M. bovis* são extrapulmonares, mas aproximadamente metade dos casos de reativação envolve o pulmão. Isto levanta a possibilidade de transmissão de *M. bovis* pessoa-a-pessoa [8], que era considerada rara e não totalmente comprovada devido a fatores como a inexistência de técnicas de tipagem atualmente disponíveis, como DNA-fingerprinting, e pelo longo intervalo entre infecção e manifestação da doença primária ou pós-primária. [11]

Quaisquer fatores imunes que previnem a progressão da infecção por *M. bovis* para doença humana típica poderiam ser suprimidos pela co-infecção pelo HIV. Atualmente, a transmissão de *M. bovis* pessoa-a-pessoa foi evidenciada utilizando-se DNA fingerprinting em um "cluster" de pacientes, principalmente imunossuprimidos (HIV, drogas imunossupressoras, etc.) e também para imunocompententes. [12] Em locais onde a infecção por HIV e a tuberculose bovina co-existem em altas prevalêncais, como na maioria das regiões em desenvolvimento, há a possibilidade de desencadeamento e perpetuação de ciclos contínuos de transmissão de *M. bovis* "pessoa-a-pessoa", "pessoa-a-animal", "animal-a-animal" e novamente "animal-a-pessoa", risco potencial que requer uma cuidadosa consideração. [13]

A escassez de informações sobre a proporção de *M. bovis* no contexto global da tuberculose humana é notória em países em desenvolvimento como o Brasil, mas também é verificada em regiões desenvolvidas. [14]

É importante ressaltar a importância da agricultura família nesse contexto, uma vez que muitas dessas famílias são produtoras de leite e queijos artesanais e vivem da renda obtida por meio da venda desses produtos. Torna-se fundamental a conscientização dessas famílias, através da transferência de informação, quanto à necessidade de controle desses produtos em torno de toda cadeia produtiva do leite. De maneira tal que os médicos veterinários são importantes profissionais envolvidos nesse contexto.

A maioria dos artigos encontrados são relatos de casos e revisões, porém estas últimas muitas vezes elaboradas sem uma visão pormenorizada conforme é exigido por uma revisão sistemática. O tipo sistemático de revisão demanda a aplicação de métodos explícitos e sistematizados de busca, apreciação crítica e síntese da informação selecionada. Portanto, realizou-se uma revisão sistemática sem metanálise da literatura publicada de 1970 a 2012 sobre a contribuição de *M. bovis* na tuberculose humana no Brasil e em outros países do mundo, apresentando achados mais recentes de países desenvolvidos, contextualizando, assim, o que tem sido aprendido e o que ainda precisa de estudos mais detalhados.

MATERIAL E MÉTODO

Este trabalho utilizou a metodologia de estudo denominada revisão sistemática, sem metanálise. A revisão sistemática tem como objetivos coletar, analisar e manter atualizados resultados de pesquisa com metodologia clara e reprodutível.

Esta revisão foi elaborada a partir de duas bases de dados científicas disponíveis online "Scielo e PubMed", por se tratarem de bases de relevância e com grande acervo de publicações. Foram utilizadas como filtros as palavras-chave "*Mycobacterium bovis* human" e delimitando o espaço temporal de 1970 a 2012. Somente periódicos indexados e "peer reviewed" foram consultados e selecionados.

Foram utilizados dois critérios de exclusão, sendo eles, artigos que envolviam somente casos de tuberculose em animais ou só envolviam relatos de Bacillus Calmette-Guérin (BCG) em humanos. Posteriormente, os artigos selecionados foram caracterizados por região de estudo (América do Norte, América do Sul, Europa, África, Ásia e Oceania), tipo de estudo epidemiológico (corte transversal, caso-controle, coorte, relato de caso, revisão e epidemiologia molecular).

Construiu-se um resumo dos principais estudos de prevalência e relatos de caso publicados, com a finalidade de apresentar uma visão panorâmica e ao mesmo tempo gerar estimativas por regiões do mundo. Para atender a este objetivo, como os critérios de definição de população variam muito nos diversos trabalhos, a população alvo de cada estudo foi detalhada, bem como o tema de abrangência (*M. bovis* em humanos, *M. bovis* em humanos e animais, *M. bovis* em associação com vírus da imunodeficiência humana, de cepas multidrogas resistentes – MDR, entre outros).

Esta revisão contou com a análise criteriosa de dois pesquisadores da área de epidemiologia, que avaliaram, de forma independente, a classificação dos artigos por tipos de estudos epidemiológicos.

RESULTADOS

Foram encontrados nas duas bases de dados pesquisadas 3.635 trabalhos que continham as palavras-chave "*Mycobacterium bovis* human". Após a aplicação dos critérios de exclusão permaneceram na amostra final 217 artigos referentes à presença de *Mycobaterium bovis* em humanos, descartando assim 3.348 artigos.

A tabela 1 apresenta a divisão dos artigos selecionados por região de estudo (América do Norte, América do Sul, Europa, Ásia, África e Oceania), possibilitando dessa forma ter uma dimensão da distribuição espacial dos trabalhos de tuberculose zoonótica no mundo.

Tabela 1. Divisão dos artigos selecionados por região de estudo

REGIÃO DO ESTUDO						
AMÉRICA NORTE	**AMÉRICA LATINA**	**EUROPA**	**ÁSIA**	**OCEANIA**	**ÁFRICA**	**TOTAL**
44	13	120	16	11	13	217
20,2%	6%	55,5%	7,3%	5,%	6%	100%

É possível observar que a maioria dos trabalhos encontrados nas duas bases consultadas concentrou-se no continente europeu e América do Norte. Em contrapartida, Ásia, África, América do Sul e Oceania tiveram menos publicações registradas nas mesmas bases.

A tabela 2 apresenta a divisão dos artigos por períodos ao longo dos 42 anos (1970 – 2012) desta revisão, possibilitando dessa maneira ter uma dimensão da evolução das publicações sobre de *M. bovis* em humanos nesse período.

Tabela 2. Distribuição temporal dos artigos selecionados

ANO DO ESTUDO				
1970 - 1980	**1981 – 1990**	**1991 – 2000**	**2001 - 2012**	**TOTAL**
34	29	65	89	217
15,6%	13,3%	29,8%	41,3%	100%

Observa-se que com o passar dos anos o número de trabalhos aumentou significativamente, fato que provavelmente se deve ao aumento das pesquisas envolvendo o agente zoonótico nas infecções humanas, impulsionadas pelo surgimento

do HIV/AIDS, e pelo desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas como a biologia molecular. A pandemia de AIDS foi reconhecida pela primeira vez em 1981, a partir de então várias outras doenças infecciosas passaram a ser mais estudadas, devido ao aumento de casos decorrentes da imunossupressão que o vírus HIV ocasiona, ou mesmo para explorar se esta possibilidade estava ocorrendo. Muitos estudos ocorreram para explorar a comorbidade tuberculose-Aids, talvez por isso o aumento das publicações sobre tuberculose zoonótica ocorrido a partir de 1991.

A tabela 3 apresenta a divisão dos artigos por tipo de estudo (corte transversal, caso-controle, coorte, relato de caso e revisão), possibilitando assim uma melhor caracterização dos trabalhos selecionados.

Tabela 3. Tipo de estudo dos artigos selecionados

TIPO DE ESTUDO						
Relato De Caso	**Revisão**	**Transversal**	**Epidemiogia Molecular**	**Caso Controle**	**Coorte**	**Total**
108	48	41	13	4	3	217
49,8%	22,1 %	18,9%	5,9%	1,9%	1,4%	100%

A partir dessa divisão pode-se observar que o tipo de estudo epidemiológico descrito como relato de caso lidera o número de publicações, com aproximadamente 50% do total de artigos selecionados, seguido dos estudos de revisão (22,1%) e transversais (18,9%). Estudos mais demorados e onerosos como o de coorte e de caso-controle apresentaram 1,4% e 1,9% do total de publicações selecionadas, respectivamente.

DISCUSSÃO

TUBERCULOSE ZOONÓTICA (*M. bovis*): UMA VISÃO GLOBAL

Estima-se que a proporção de tuberculose humana por *M. bovis* seja 3,1% no mundo. Mas, essa proporção varia de região para região, influenciada, principalmente, pelo estágio de controle da tuberculose bovina e nível da inspeção sanitária do leite e derivados. [15] Um resumo da situação do nível de controle da tuberculose bovina e os achados detalhados sobre a proporção da tuberculose zoonótica no contexto da tuberculose humana global, por grandes regiões do mundo, serão apresentados a seguir.

ÁFRICA

No continente africano o controle da tuberculose bovina encontra-se distante do objetivo final de erradicação. Estima-se que 85% da população de bovinos e 82% da população de seres humanos vivem em locais onde a tuberculose bovina não possui nenhum controle ou esse é praticado de forma insuficiente. Em apenas 12,7% de seus países alguma medida de controle baseada em teste/sacrifício de animais positivos e notificação é praticada. [16]

Nesse continente, ocorreram diversos relatos sobre a incidência de tuberculose zoonótica. Muitos destes estudos envolveram pesquisas sobre coleções de micobactérias pré-existentes ou foram limitados a locais de atendimento de pacientes, como no Zaire, Egito, Madagascar e Tanzânia. Em Madagascar, um inquérito conduzido em áreas urbanas encontrou porcentagens de *M. bovis* limitadas a 1,3% dos casos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar. [17] Neste país, foi demonstrado, por biologia molecuar que um genótipo de *M. bovis* é prevalente entre bovinos e seres humanos.[18]

Uma ampla revisão foi publicada por Ayele et al. (2004). Estes autores fizeram previsões sobre a tuberculose zoonótica, principalmente para África, entre elas a de que em regiões em desenvolvimento, como na África Sub-Sahariana, onde ocorrem, anualmente, cerca 2.000.000 de casos de tuberculose humana e apresentam as maiores prevalências de HIV, a co-infecção deste vírus imunossupressor com *M. bovis* poderia implicar em um aumento dos casos de tuberculose zoonótica. Os mesmos autores ressaltam que “embora possa ser considerada como um assunto regional, a tuberculose bovina nas nações em desenvolvimento deveria ser encarada no contexto do efeito devastador da pandemia de AIDS/HIV”. [19]

Na África Sub-Sahariana, embora não se tenha uma dimensão exata, há evidências de que a transmissão zoonótica mantém significativa. Na Nigéria (1983) na região de Lagos, quatro (3,9%) de 102 isolados coletados de amostras de casos suspeitos de tuberculose humana pulmonar selecionados randomicamente foram identificados como *M. bovis*. . [20] No mesmo país, a identificação da bactéria em seres humanos foi conduzida em três hospitais de Jos entre 329 voluntários apresentando broncoespasmo persistente, verificando-se uma alta participação do agente zoonótico, sendo dez (15,3%) dos 65 isolados de micobactérias caracterizados como *M. bovis.* [21]

Um trabalho desenvolvido na África do Sul relata que a tuberculose bovina tem se mostrado uma doença significante para o cenário econômico no mundo desenvolvido, os países de baixa renda estão enfrentando desafios que potencialmente afetam a saúde dos animais e seres humanos, como principalmente o HIV/AIDS e outros que afetam eminentemente a subsistência da população humana. [22]

Em Chade, suspeita-se de incidência de tuberculose humana variando de 100 a 250/100.000 habitantes, sendo estimada uma incidência devida a *M. bovis* de 4 a 25/100.000, uma proporção de 4 a 10% de tuberculose zoonótica, dependendo dos níveis de exposição a animais infectados e leite contaminado.[23]

No Egito, as proporções de infectados por *M. bovis* em três observações relatadas em dois centros de saúde foram 0,4%, 5,4% e 6,4%. [24] Em outro trabalho, nesse mesmo país, em 20 pacientes com peritonite tuberculosa randomicamente selecionados em um hospital, nove (45,0%) estavam infectados por *M. bovis*, sendo o restante por *M. tuberculosis.* [25]

Como o consumo de leite cru é considerado alto em regiões da África onde HIV/AIDS é altamente prevalente, muitos estudos concentraram-se em pacientes que tinham linfadenite. Dois estudos foram realizados na Tanzânia, o primeiro em sete hospitais de distritos rurais e semi-rurais de Arusha e o segundo a partir de suspeitos de tuberculose amostrados em áreas rurais, ambos encontraram altas prevalências de *M. bovis*, 10% e 16%, respectivamente. [26,27] Outro estudo na Etiópia também demonstrou alta prevalência do agente (17,1%) nos pacientes com linfadenite tuberculosa atendidos e caracterizados por biologia molecular em um centro de saúde rural do sul daquele país. [28] Por outro lado, um estudo em Djibouti mostrou baixa prevalência de *M. bovis* (1,1%) em pacientes com tuberculose humana vivendo naquele país. [29]

Ainda na Tanzânia, um estudo revelou alta diversidade genética no conjunto de cepas de *M. bovis* humanas e bovinas, refletindo extensivos movimentos internos de

bovinos pertencentes a pecuaristas. Mas, houve, também, evidência de sobreposição de DNA fingerprinting de amostras bovinas e humanas, sugerindo transmissão zoonótica.[27]

Outro estudo realizado em uma área rural da Tanzânia, sete (10,8%) dos 65 pacientes investigados foram identificados com adenite cervical e tinham como agente etiológico *M. bovis*, dos quais apenas um veio de uma família que possui gado infectado. [30]

Na Nigéria, um estudo verificou que três isolados de *M. bovis* (5%) foram identificados em um total de 60 amostras caracterizadas. Esse estudo foi realizado em dois principais hospitais de referência no Ibadan, as amostras obtidas e identificadas como *M. bovis* apresentaram ausência de padrões genéticos comuns quando comparadas com amostras bovinas isoladas na mesma região. [31]

No Zaire, *M. bovis* foi isolado de duas (40%) de cinco amostras secreções gástricas de pacientes com tuberculose analisadas, onde no mesmo local a prevalência de tuberculose bovina era de aproximadamente 8%. [32] Por outro lado, em Burundi, nenhum *M. bovis* foi identificado em 119 isolados humanos, numa região onde esse microrganismo foi encontrado em uma amostra (2,17%) de 46 bovinos saudáveis e em 14 amostras (38,8%) de 36 bovinos suspeitos de tuberculose. [33]

Em um levantamento realizado em Uganda, em 2005, relatou-se que a prevalência de tuberculose humana foi de 559 casos/100.000 habitantes. Estudos revelaram que 0,4% a 10% das amostras de escarro de pacientes com tuberculose em países africanos têm como agente *M. bovis*. Em questionário respondido por pacientes diagnosticados com tuberculose no hospital de Mbarara, cidade do oeste da Uganda, observou-se que 27 /64 (42,2% ; 6 não responderam) dos pacientes tinham um histórico de consumo de leite cru ; contudo, 20/ 24 (83%; 3 não responderam) relataram que fervia o leite fresco antes de consumi-lo, assim como 54/60 (90% de todos os pacientes , 10 não responderam) relataram comer carne mal cozida e 91% relataram comer carne crua.

A tabela 4 descreve casos de tuberculose zoonótica ocorridos na África, classificando-os por local, alvo do estudo (origem da identificação de *M. bovis*) e achados de relevância em cada artigo.

Tabela 4. Casos de tuberculose zoonótica ocorridos em países da África

Local	Alvo do Estudo	Achado	Referência
Madagascar	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas, inquérito em áreas urbanas.	1,25% dos casos pulmonares e extrapulmonares de TB.	Rasolofo-Razanamparany et al. 1999. [17]
Madagascar	Genotipagem de *M. bovis.*	Um genótipo é prevalente em seres humanos e bovinos.	Rasolofo-Razanamparany et al. 2006. [18]
Nigéria	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas. 668 suspeitos de tuberculose pulmonar foram randomicamente selecionados de um total de 2784 ocorridos em Lagos.	4 (3,9%) de 102 cultivos.	Idigbe et al. 1986. [20]
Nigéria	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas. Conduzido em três hospitais de Jos, com 329 voluntários apresentando broncoespasmo persistente.	10 (15,38%) dos 65 isolados de micobactérias conseguidos.	Mawak et al. 2006. [21]
Nigéria	Genotipagem de coleção de *M. bovis* em dois hospitais de referência.	3 (5%) em 60 isolados e ausência de padrões comuns de *M. bovis* de bovinos e humanos.	Cadmus 2006. [31]
Egito	Identificação de *M. bovis* em casos pulmonares humanos usando culturas em dois centros de saúde egípcios.	Proporções de 0,4%, 5,4% e 6,4% em três observações relatadas.	Elsabban 1992. [24]
Egito	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em um hospital.	9 de 20 (45%) dos casos de peritonite tuberculosa randomicamente selecionados.	Nafeh 1992. [25]
Zaire	Relato clínico de identificação de *M. bovis* em secreções gástricas de pacientes com TB pulmonar de local onde a prevalência de TB bovina era cerca de 8%.	Duas (40%) de cinco secreções gástricas.	Mposhy 1983. [32]
Tanzânia	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas positivas de linfonodo. Inquérito em áreas rurais.	16% de um total de 41 casos de linfadenite cervical.	Kazwala 2001. [108]
Tanzânia	Identificação de *M. bovis* em biopsias de linfonodos de pacientes com tuberculose em 7 hospitais de distritos rurais e semi-rurais.	10% dos casos de linfadenite tuberculosa.	Mfinanga 2004. [26]
Tanzânia	Genotipagem de coleção de *M. bovis.*	Baixo "clustering" de casos em humanos e bovinos e alguma sobreposição entre si.	Kazwala 2005. [27]
Djibouti	Identificação de *M. bovis* em biopsias de linfonodos de pacientes com TB.	Baixa prevalência em linfadenite tuberculosa. 1 (1,1%) em 85 que cresceram cultura.	Koeck 2002. [29]

Burundi	Identificação de *M. bovis* em cultura de micobactérias de amostras de humanos e gado.	Nenhum *M. bovis* em 119 isolados humanos, 14 (38%) de 36 bovinos suspeitos.	Rigouts 1996. [33]
Etiópia	Identificação de *M. bovis* em biopsias de linfonodos de pacientes com tuberculose.	17,1% dos casos de linfadenite tuberculosa.	Kidane 2002. [28]

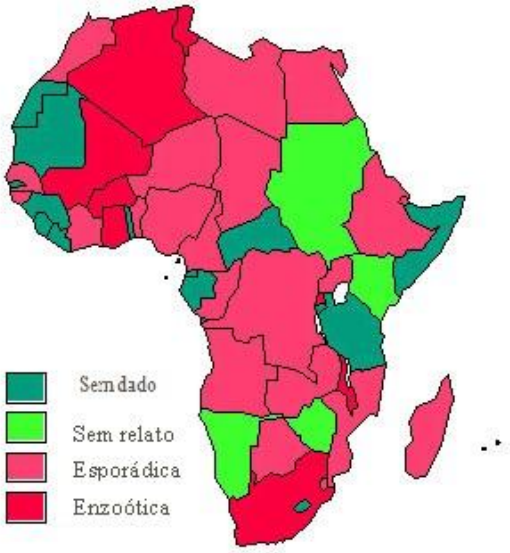

Figura 1. Ocorrência de tuberculose bovina na África. (Adaptação de Cosivi et al. 1998)

Figura 2. Medidas políticas de controle da tuberculose bovina com base em teste e abate e notificação de doenças. (Adaptação de Cosivi et al, 1998)

ÁSIA

Neste continente, medidas de controle da tuberculose bovina baseadas no teste/sacrifício de animais positivos e notificação foram adotadas em poucos países, aproximadamente 19%, entre eles China e Índia. Há poucas publicações sobre tuberculose zoonótica e são necessárias investigações epidemiológicas mais sistemáticas sobre esta doença no continente em questão, onde o peso da tuberculose humana é alto no contexto global. [5]

Na China, houve apenas um relato clínico de tuberculose disseminada devida a *M. bovis*. [35] Na Índia, em dois inquéritos que analisaram amostras de líquido cefalorraquidiano (LCR) de suspeitos de meningite tuberculosa, houve evidência molecular de *M. bovis*. No primeiro estudo, 8,7% das amostras apresentaram co-infecção *M. bovis* - *M. tuberculosis.* [36] No segundo estudo, um inquérito utilizando Nested PCR em um total de 112 espécimes de LCR, 19 (17%), 3 (2,7%), 15 (13,4%) e 75 (67%) foram detectados *M. bovis*, *M. tuberculosis*, co-infecções de ambos os agentes e nenhum de ambos os agentes, respectivamente. Esses autores, então, alertaram para a ocorrência ignorada de *M. bovis* como causa de meningite tuberculosa naquele país. [37]

No Irã, duas crianças da mesma família foram infectadas por *M. bovis.* A tipagem molecular mostrou fonte idêntica de infecção, pela homologia das cepas envolvidas. A escola dessas crianças suspeita a possibilidade da infecção ser decorrente de leite contaminado, porém o estudo não descarta a possibilidade da transmissão do agente por meio de aerossóis entre essas duas crianças. [38]

Em um estudo realizado em Taiwan, de 3.321 pacientes com tuberculose, 15 (0,5%) foram identificados como portadores de *M. bovis* por um laboratório de tipagem molecular, sendo nove destes (60%) pacientes aborígenes. [39]

A tabela 5 descreve casos de tuberculose zoonótica ocorridos na Ásia, separando-os por local, alvo do estudo (origem da identificação de *M. bovis*) e achados de relevância em cada artigo.

Tabela 5. Casos de tuberculose zoonótica ocorridos em países da Ásia

Local	Alvo do Estudo	Achado	Referência
China	Relato clínico	Tuberculose disseminada devida a *M. bovis*	Wei, 2004. [35]
Índia	Inquérito de *M. bovis* em líquido cefalorraquidiano	Evidência molecular em 8,7% das amostras analisadas	Prasad, 2005. [36]
Índia	Inquérito de *M. bovis* por "nested" PCR em líquido cefalorraquidiano (112 espécimes analisados)	Alta proporção de *M. bovis*. 19 (17%), 3 (2,7%), 15 (13,4%) e 75 (67%) foram *M. bovis*, *M. tuberculosis*, co-infecções de ambos os agentes e negativos para ambos os agentes, respectivamente	Shah et al. 2006. [37]
Taiwan	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas enviadas a um laboratório de tipagem molecular	15 (0,5%) de 3.321 pacientes, nove deles (60%) eram pacientes aborígenes	Jou et al. 2008. [39]

Figura 3. Ocorrência de tuberculose bovina na Ásia. (Adaptação de Cosivi et al, 1998)

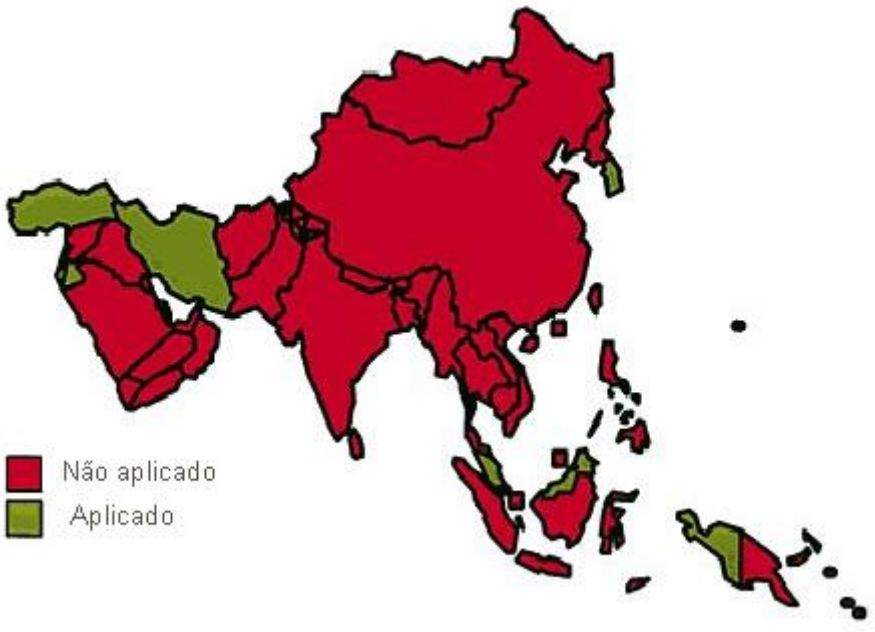

Figura 4. Medidas políticas de controle da tuberculose bovina com base em teste e abate e notificação de doenças na Ásia. (Adaptação de Cosivi et al, 1998)

ESTADOS UNIDOS DA AMÉRICA E CANADÁ

Nos Estados Unidos da América (EUA), 25% dos casos fatais de tuberculose humana eram causados por *M. bovis* em 1917, o que desencadeou a implantação de medidas de controle da tuberculose bovina naquele mesmo ano. [40] Passados 30 anos, o país foi declarado livre da tuberculose bovina, com a ocorrência considerada rara e esporádica. [41] A implementação do programa de controle da tuberculose bovina e a expansão do processo de pasteurização de leite e derivados no país foi acompanhada por uma redução drástica da prevalência de tuberculose zoonótica. [40] Em um estudo, uma baixa taxa de infecções por *M. bovis* foram identificadas em seis (0,3%) de 2.086 pessoas com tuberculose bacteriologicamente comprovada em uma clínica, em Rochester (1954-1968). Destes casos de tuberculose zoonótica, quatro (66,6%) eram nascidos nos Estados Unidos e dois (33,3%) na Europa, sendo todos adultos. [42]

Entretanto, a prevalência de *M. bovis* como causa de doença em seres humanos tem aumentado na fronteira dos EUA com o México. Em San Diego (EUA), de 1980 a 1991, 73 pacientes foram diagnosticados com tuberculose zoonótica, representando 3% do total de casos de tuberculose humana. [43] Adicionalmente, de 1994 a 2000, ocorreram 129 casos de tuberculose zoonótica (6,6% do total de casos de tuberculose humana), verificando-se um incremento se comparado à década de 80 e início da década de 90, tanto em números absolutos como relativos. [44] A maioria dos pacientes com tuberculose zoonótica, nesses dois estudos, 80% e mais de 90%, respectivamente eram de origem hispânica ou filhos de pais com a referida origem, originários principalmente do México.

Na Universidade de Medicina da Califórnia, uma análise retrospectiva de dados de tuberculose em San Diego positivos por cultura entre 1994-2005 mostrou que 62 (45%) de 138 casos de TB em crianças (< 15 anos de idade) e 203 (6%) de 3.153 dos casos de TB em adultos eram causados por *M. bovis*. Pessoas com *M. bovis* tiveram aproximadamente três vezes mais risco de morrer durante o tratamento do que aqueles com *M. tuberculosis*. [49]

Outro estudo realizado na Universidade da Califórnia analisou 86 casos de pacientes HIV positivos com co-infecção para tuberculose. Destes pacientes, 34,9% tinham tuberculose causada por *M. bovis* e mostraram-se mais propensos a ter imunussupressão avançada (contagem de células T CD4 < 200 céls./mL). Fatores como

etnia hispânica, sexo masculino e doença abdominal apresentaram-se fortemente associados com a doença causada por *M. bovis*. [50]

M. bovis possui também um dramático impacto sobre tuberculose em crianças habitantes nessa fronteira. De 1980 a 1997, esta bactéria foi responsável por um terço (33,9%) dos cultivos oriundos de crianças (até 15 anos) atendidas em San Diego, com alto envolvimento (42.3%) nos casos extrapulmonares. Esta alta ocorrência de casos zoonóticos extrapulmonares poderia sobrecarregar os recursos destinados à saúde, pelas intervenções médicas complementares envolvidas nessa forma clínica de tuberculose. De forma similar aos demais estudos ocorridos nessa mesma fronteira, foi constatado que a maioria das crianças era de origem hispânica ou filhas de pais hispânicos. Das 563 crianças analisadas, 444 (78.9%) eram de origem hispânica, oriundas principalmente do México, sendo apenas 7 (1,2%) nativos dos EUA. [45]

A re-emergência de tuberculose zoonótica foi relatada também no interior dos EUA. Dos 4.524 casos de tuberculose humana relatados na cidade de Nova York durante 2001-2004, um total de 3.417 (76%) foi confirmado por cultura, destes 3.123 (91%) tiveram resultados de "spoligotyping", dos quais 35 (1%) foram identificados como *M. bovis*. Dos casos de tuberculose zoonótica grande parte ocorreu em adultos nascidos fora dos EUA, principalmente México, ou em filhos de pais estrangeiros, principalmente de origem mexicana. [46]

Uma das principais preocupações relacionadas à re-emergência de *M. bovis* em países industrializados é com as epizootias que tem acontecido em animais domesticados e selvagens. A possibilidade de infecção por *M. bovis* em seres humanos preocupou as autoridades de saúde de Michigan, EUA, devido a sua endemicidade na população de alces selvagens do estado e a sua ressurgência em vários rebanhos de bovinos. Embora a vigilância tenha indicado que nenhum aumento em sua incidência em pessoas residentes em Michigan tivesse ocorrido desde um surto que iniciou em animais em 1994, foi evidenciada ligação epidemiológica e molecular entre casos humanos e genótipos circulantes em surtos envolvendo alce/bovinos daquele estado, tendo duas (18,1%) de 11 amostras genotipadas do total de 13 pacientes com *M. bovis* detectados a partir de 1995 no estado apresentando homologia com a dos surtos animais. [47]

Um relato realizado no Canadá evidenciou transmissão transcontinental de *M. bovis* multidrogarresistente (MDR). O agente zoonótico foi adquirido por um indivíduo imunocompetente, possivelmente via aerógena, a partir de visita a parente com

tuberculose zoonótica, co-infectado pelo HIV, internado na Espanha. O padrão de resistência apresentado pelo genótipo em questão foi sem precedentes na América, entre as 26 drogas testadas, o agente foi totalmente sensível apenas a uma e parcialmente sensível a outra. A genotipagem demonstrou homologia entre as amostras de *M. bovis* de ambos os pacientes envolvidos. [48]

O Canadá iniciou um programa de controle da tuberculose bovina em 1919, o qual encontra-se atualmente em estágio avançado, com a ocorrência rara e esporádica de casos da doença. [41] Esse país também demonstrou preocupação semelhante aos EUA com a ocorrência de epizootias entre animais selvagens e domesticados. O risco associado à exposição ocupacional durante a depopulação de alces tuberculosos foi observado em Alberta, em um surto que iniciou em 1990, em que foi envidenciado um caso de infecção humana ativa por *M bovis*, utilizando cultura do escarro. [51] Um fato semelhante foi verificado em Ontario no final de 1991, onde fazendas com criação de veados são amplamente distribuídas, com 263 rebanhos na época. Dois desses rebanhos de alces e veados foram depopulados e enviados ao abate (sacrifício). Um inquérito de tuberculinização entre os trabalhadores do matadouro, incluindo veterinários e inspetores foi conduzido, demonstrando que um dos 51 indivíduos inicialmente PPD não-reagente, resultou em um segundo teste reagente, três meses mais tarde, possivelmente como resultado da exposição a *M. bovis.* [52]

A tabela 6 descreve casos de tuberculose zoonótica ocorridos nos Estados Unidos da América e Canadá, separando-os por local, alvo do estudo (origem da identificação de *M. bovis*) e achados de relevância em cada artigo.

Tabela 6. Casos de tuberculose zoonótica ocorridos nos Estados Unidos e Canadá

Local	Alvo do Estudo	Achado	Referência
Canadá	Relato clínico de TB por *M. bovis.*	Um caso de tuberculose ativa transmitida via aerógena por contato com alces positivos	Fanning & Edwards 1991. [51]
Canadá	Relato de evidência de transmissão de *M. bovis* a trabalhadores de matadouro a partir da depopulação de fazendas de alces e veados positivas.	Uma evidência de transmissão.	Liss et al. 1994. [52]
Canadá	Relato clínico de TB por *M. bovis* em paciente não infectado por HIV.	Evidência de transmissão transcontinental de *M. bovis* multidroga-resistente (MDR) para cidadão canadense a partir de visita a parente com TB por *M. bovis* internando na Espanha	Long, 1999. [48]
EUA	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em uma clínica (1954-1968).	0,3% de 2086 casos de tuberculose detectados	Karlson, 1970. [42]
EUA	Relato clínico de *M. bovis*.	Um caso em paciente na Georgia	Dreensen & Wood 1970. [109]
EUA	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em San Diego (1980 – 1991).	3% do total de casos humanos, maioria imigrantes de origem Mexicana. 17,8% dos casos zoonóticos em co-infecção com HIV	Dankner, 1993. [43]
EUA	Identificação de *M. bovis* em crianças de San Diego usando culturas (1980-1997).	33,9% (1/3) dos casos de tuberculose, maioria imigrantes de origem Mexicana. Com envolvimento em 42,3% nos casos extrapulmonares	Dankner, 2000. [45]
EUA	Identificação de M. bovis em humanos usando culturas em San Diego (1994-2000).	6,6% do total de casos humanos, maioria imigrantes de origem Mexicana. 23% dos casos zoonóticos em co-infecção com HIV	LoBue, 2003. [44]
EUA	Relato de casos de identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas e identificação molecular na cidade de Nova York.	35 casos (1% dos isolados analisados), maioria imigrantes de origem Mexicana. Sete (28%) dos 27 testados para HIV foram positivos	Winter, 2005. [46]
EUA	Diagnóstico de TB em trabalhadores de uma fazenda de leite.	Fatores de risco para TB zoonótica, mas nenhum caso demonstrado	Winthrop, 2005. [110]
EUA	Genotipagem de *M. bovis* de humanos do sul da Califórnia e bovinos do México.	97 (91%) de 106 isolados humanos perfis idênticos ao de bovinos mexicanos	Rodwell et al. 2010. [49]
EUA	Relato de caso de dois pacientes que adquiriram o *M. bovis* através de exposição com cervos infectados.	Duas (18,1%) de 11 amostras genotipadas do total de 13 pacientes com *M. bovis*.	Wilkins et al., 2008. [47]

AMÉRICA LATINA E CARIBE

A população bovina na América Latina e Caribe é estimada em 374 milhões, 70% do total existente estão distribuídos em áreas onde taxas de infecções zoonóticoas são moderadas a altas (maiores que 1%). [53] A Argentina, que possui um rebanho bovino considerável, e o Brasil, que possue o segundo maior rebanho bovino do mundo, possuem juntos aproximadamente 70% do total do rebanho da região e iniciaram seus programas de controle da tuberculose bovina em 1993 e 2001, respectivamente. [54]

No Brasil um inquérito de tuberculinização bovina realizado em Minas Gerais, em 1999, demontrou prevalência de animais infectados de 0,8%, e aproximadamente 5% das propriedades com animais reagentes; percentual esse que se elevava para 15% em propriedades produtoras de leite com algum grau de mecanização da ordenha e de tecnificação da produção. Foi estimado que no país 1,3% dos bovinos estejam infectados. [55]

Um possível risco desta enzootia de tuberculose bovina à saúde pública do Brasil é o significativo comércio de leite e derivados não pasteurizados. Na década de 90, o mercado informal de leite cresceu 52% no país, quase o dobro da produção formal no período (29%). Ainda segundo dados da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz/USP, em função dessa ampliação, o produto não-oficial respondeu por 31% da renda bruta e 44% do volume de leite comercializado no país em 2000. [56] Além da alta taxa de comércio informal do leite e dos derivados lácteos, o abate de bovinos e suínos clandestinamente para consumo humano permanece disseminada no país, o qual implica em risco ocupacional de infecção por *M. bovis*, principalmente para trabalhadores que lidam no abate e processamento dos animais.

Na Argentina, entre 1969 e 2005, uma média de 10 milhões de carcaças foi anualmente inspecionada pelo serviço oficial. Durante este período, a porcentagem de carcaças condenadas com tuberculose bovina decresceu de 6,7% para 1,1%. O número de rebanhos de leite oficialmente livres de *M. bovis*, baseado em um programa voluntário de certificação, aumentou sensivelmente de apenas 44, em 1995, para 5.663 (aproximadamente dois milhões de bovinos), em 2005. [53]

Na América Latina, estima-se que 2% dos casos pulmonares e 8% dos extrapulmonares de tuberculose humana sejam desencadeados por *M. bovis.* [16] Assim, de acordo com a Organização Panamericana da Saúde surgem aproximadamente 7.000

novos casos de tuberculose zoonótica por ano, uma taxa de cerca de 2/100.000 habitantes. [57]

Nessa região, os estudos mais representativos foram conduzidos pela Argentina, que em uma pequisa realizada no período de 1982-1984, com a participação de 15 laboratórios humanos que realizavam cultivo, demonstrou que *M. bovis* foi responsável por 0,47% de 7.672 casos de tuberculose analisados por cultivo, variando de 0,04% a 1,85%, dependendo do grau de envolvimento com a atividade pecuária das seis regiões do estudo. [6] As maiores porcentagens de casos humanos devidos a *M. bovis* foram observadas em províncias com grandes fazendas e atividades de criação de gado, como Santa Fé e Córdoba. Em Santa Fé, o agente bacteriano chegou a proporções anuais, no período de 1977-1989, de 0,7% a 6,2% dos casos de tuberculose, média no período de 2,62%. [58] Por volta de 1982 foi identificado em um hospital urbano de Buenos Aires , que 8% de isolados de micobactérias de espécimes extrapulmonares eram *M. bovis.* [59]

A genotipagem de *M. bovis* de isolados de seres humanos na Argentina mostrou que o perfil molecular predominante em gado também predomina em seres humanos, indicando que o agente é transmitido de bovinos para seres humanos, sendo a maioria dos casos de tuberculose zoonótica relacionada a fazendas ou indústrias de carne. [60]

Entretanto, Cataldi & Romano (2007) obtiveram isolados com escasso crescimento em meio Löwenstein-Jensen de diferentes hospitais da Argentina e muitos deles foram identificados como *M. bovis*. Mas, a genotipagem desta bactéria mostrou que pertenciam a um "spoligotipo" (perfil molecular) que não era predominante em bovinos, sugerindo que um clone circulava entre seres humanos. [5]

Também na Argentina, em hospital de Buenos Aires, foi realizado estudo retrospectivo em 39 pacientes doentes diagnosticados com tuberculose zoonótica, representando 0,4% dos casos de tuberculose nesse hospital. Desses pacientes, 93% tinham pelo menos um fator de risco para tuberculose zoonótica, o mais frequente foi a exposição ocupacional (65%), seguido pela história de vida em área rural (31%) e do consumo de leite não pasteurizado (4%). A doença pulmonar foi a apresentação clínica mais frequente. [61]

No Brasil, sabe-se que a incidência de *M. bovis* era elevada nas primeiras décadas do século passado. Em São Paulo, em 1941, foi identificada alta proporção de tuberculose zoonótica em pacientes com meningite tuberculosa, 16 casos (13,2%) foram identificados no total de 121 analisados; e, em Minas Gerais, em 1955, foram identificados dois casos (3,8%) em 52 pacientes com tuberculose que tiveram as

micobactérias caracterizadas. [62] A publicação nacional mais detalhada sobre tuberculose zoonótica resultou de investigação ocorrida em São Paulo, no período de setembro de 1970 a outubro de 1973, que descreve 200 amostras de micobactérias isoladas de diferentes casos, com diagnóstico clínico de tuberculose, sendo que sete (3,5%) foram caracterizadas como *M. bovis*. Todas essas sete foram isoladas de crianças, sendo cinco de origem pulmonar, duas destas caracterizadas como MDR. Naquela época, os autores alertam que a tuberculose zoonótica deveria ser vista como problema de saúde pública no país. [63]

Nenhum outro estudo de prevalência de tuberculose zoonótica em população conhecida e delimitada do país foi conduzido de forma sistematizada e publicado desde aquela época até o final de 2010. Apenas três casos adicionais de tuberculose zoonótica identificados no período de 1970-2007, por laboratórios de referência nacionais, foram divulgados mais recentemente. [64]

Dois casos de tuberculose zoonótica no Equador e um na Venezuela também foram divulgados no período de 1970 a 2007 por laboratórios de referência desses países. [64]

No México, muitas publicações foram encontradas, mostrando uma participação significativa de *M. bovis* como causa de tuberculose zoonótica. Um estudo isolou micobactérias em 19 (38%) de 50 espécimes clínicos provenientes de pacientes com tuberculose crônica (9 BAAR positivos e 41 BAAR negativos), utilizando meios Löwenstein Jensen-LJ e Stonebrink-SB em paralelo. Do total de crescimentos, 10 (52,6%) corresponderam a amostras com exame de escarro negativo. Treze dos crescimentos (68,4%) foram identificados como *M. tuberculosis*, três (15,7%) corresponderam a *M. bovis* e outros três (15,7%) apresentaram crescimento misto de ambos agentes no mesmo tubo. A proporção de seis (31,5%) *M. bovis* no total de amostras caracterizadas sugere que o agente zoonótico possui participação importante entre casos de tuberculose crônica na região mexicana estudada. Além disso, os autores ressaltaram a importância de realização de isolamento em meios LJ e SB em paralelo e da caracterização micobacteriana, além da baciloscopia de forma isolada, principalmente em pacientes com tuberculose crônica. [65]

Outro estudo mexicano verificou uma alta proporção de *M. bovis* de 13 (13,8%) entre 94 amostras humanas analisadas, quatro delas mostrando padrão genético semelhante a amostras bovinas, demonstrando que a circulação de cepas de bovinos para seres humanos ocorre na região. Cinco amostras de *M. bovis* (38,4%) estavam

envolvidas em formas pulmonares de tuberculose, seis (46,1%) detectadas na urina e duas (15,3%) em suco gástrico. [66]

Ainda no México, de janeiro 2000 a dezembro de 2003, foi investigado pelo Serviço de Pneumologia do Hospital Geral do México, Cidade do México, a taxa de *M. bovis* como causa de tuberculose extrapulmonar (TBEP) entre pacientes positivos e negativos para HIV. O microrganismo zoonótico foi diagnosticado em seis (7,2%) pacientes entre 83 HIV negativos (três com linfadenite e três com envolvimento geniturinário) e em 11 (13,75%) de 80 HIV positivos (sete com linfadenite, três com envolvimento genito-urinário e um com meningite), mostrando que os pacientes HIV positivos tiveram uma taxa de TBEP por *M. bovis* aparentemente maior. [67]

Em um estudo conduzido em 2010 também no México foram utilizadas 562 amostras de escarro, urina e tecidos obtidos de pacientes sintomáticos para tuberculose, de trabalhadores rurais que trabalhavam com pecuária leiteira e de trabalhadores de matadouros. As amostras foram analisadas para BAAR e reação em cadeia da polimerase (PCR) e cultivadas em meios Stonebrink e Löwenstein-Jensen. Spoligotyping foi realizada em todos os isolados ou em sequências de DNA obtidas por PCR. A partir do número total de casos humanos, 34 (6%) apresentaram perfil molecular de *M. bovis*. [68]

Outro estudo realizado no mesmo país, de 1995 a 2009, utilizando 124 isolados de pacientes com TB e 60 isolados de bovinos foram analisadas. A identificação por PCR foi realizada utilizando o pseudogene *oxyR* e os aspectos clínicos e epidemiológicos da tuberculose zoonótica em humanos foram investigados. O teste de PCR caracterizou 35 (28%) dos 124 isolados humanos e 58 (97%) dos 60 isolados de gado como *M. bovis*. Do total de casos de TB zoonótica, 35 apresesentavam TBEP, sendo 51% em crianças, 69% em desnutridos, 51% em consumidores de leite não pasteurizado, 6% em expostos a contatos com animais, 11% recidivas e tendo 31% vindo a óbito. [69]

Finalmente, em uma pequena coleção de micobactérias isoladas de seres humanos no Chile, *M. bovis* não foi encontrado na Décima (X^a) região, onde a prevalência de tuberculose bovina é de aproximadamente 5% de rebanhos com pelo menos um animal infectado. [70] Em determinadas províncias chilenas, a prevalência de tuberculose bovina é bem mais elevada, chegando a 56% de rebanhos infectados, uma investigação mais extensiva sobre tuberculose zoonótica seria necessária naquele país para uma estimativa mais acurada. [64]

O envolvimento de *M. bovis* como causa de tuberculose humana foi atualizado em dez países da América Latina (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, República Dominicana, Equador, Peru, Uruguai e Venezuela) por meio de um questionário, pelos laboratórios participantes de cada um dos países em questão e uma pesquisa da literatura publicada (1970-2007). Aparentemente, no Chile, Colômbia, Costa Rica, República Dominicana, Peru e Uruguai, *M. bovis* nunca foi isolado de seres humanos. [64] Entretanto, esses autores enfatizam que os dados negativos em sua maioria provavelmente subestimam a infecção levando-se em conta a limitada utilização de meios à base de ovo contendo piruvato e de meios semissintéticos nos quais *M. bovis* poderia preferencialmente crescer. Somente na Argentina, onde o meio SB tem sido tradicionalmente usado em paralelo com o LJ, uma quantidade relativamente alta de isolados de *M. bovis* foi obtida. Assim, esses autores afirmam que os dados nesses países, apesar de escassos e em geral subestimados, mostraram que a relevância global de *M. bovis* como causa de tuberculose humana permanece relativamente baixa se comparada à de *M. tuberculosis.*

A tabela 7 descreve casos de tuberculose zoonótica ocorridos na América Latina, separando-os por local, alvo do estudo (origem da identificação de *M. bovis*) e achados de relevância em cada artigo.

Tabela 7. Casos de tuberculose zoonótica ocorridos em países da América Latina

Local	Alvo do Estudo	Achado	Referência
Chile	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em uma pequena coleção de amostras de micobactérias humanas.	Nenhum (0%) *M. bovis*	Mancilla, 2006. [70]
Argentina	Identificação de *M. bovis* em humanos não infectados pelo HIV usando culturas, excluindo-se amostras de urina, em um hospital urbano de Buenos Aires.	8% dos casos extrapulmonares	Peluffo, 1982. [59]
Argentina	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas, principalmente casos pulmonares envolvendo 15 laboratórios.	0,47 % (0,04-1,85%) dos casos, em 7672 casos de TB	Barrera, 1987. [6]
Argentina	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas, Santa Fé.	Variações anuais de 0,7-6,2% (média = 2,62%) dos casos detectados	Sequeira, 1990. [58]
Argentina	Genotipagem de coleção de *M. bovis.*	Um genótipo é prevalente em humanos e gado	Zumarraga, 1999. [60]
Argentina	Genotipagem de *M. bovis* isolados de seres humanos que cresceram pouco no meio LJ em diferentes hospitais da Argentina.	Perfil genotípico diferente dos encontrados em bovinos, possivelmente um clone de *M. bovis* que circula entre humanos	Cataldi & Romano 2007. [5]
Brasil	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em um hospital do estado de São Paulo.	7 de 200 (3,5%) do total devidas ao *M. bovis*, sendo 5 pulomonares (2 MDR) e 2 extrapulmonares.	Correa, 1974. [63]
Brasil	Relato de casos por laboratórios de referência.	1 (0,05%) em 2000 isolados e 2 (0,04%) em 5617 casos extrapulmonares identificados pelos laboratórios Hélio Fraga e Adolfo Lutz, respectivamente.	Kantor et al. 2007. [64]
Brasil	Identificação de *M. bovis* em humanos usando identificação de culturas e esfregaços de escarro por biologia molecular.	Nenhum *M. bovis* foi evidenciado em culturas de 702 casos de TB e em esfregaços de 223 pacientes.	Da Silva Rocha et al. 2010.
Equador	Relato de casos por laboratórios de referência.	2 (0,19%) em 1044 isolados selecionados para tipagem	Kantor et al. 2007. [64]
Venezuela	Relato de casos por laboratórios de referência.	1 (0,08%) em 1250 casos	Kantor et al. 2007. [64]
México	Identificação de *M. bovis* isolados ou em co-infecção em culturas micobacterianas de pacientes com tuberculose crônica.	6 de 19 (31,5%) isolados de pacientes com TB crônica	Ordoñez, 1999. [65]
México	Investigação do *M. bovis* em pacientes HIV+ e HIV-.	Dos 80 pacientes HIV+, 11 tinham a presença do *M. bovis* e dos 83 pacientes HIV-, 6 tinham a presença do *M. bovis.*	Cicero et al., 2009. [67]
México	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas, incluindo todas as formas de tuberculose.	13 (13,8%) de 94 isolados	Pérez-Guerrero, 2008. [66]

Figura 5. Ocorrência de tuberculose bovina na América Latina e Caribe. (Adaptação de Cosivi et al, 1998)

Figura 6. Medidas políticas de controle da tuberculose bovina com base em teste e abate e notificação de doenças na América Latina e Caribe. (Adaptação de Cosivi et al, 1998)

EUROPA E OCEANIA

Na União Européia, onde a situação sanitária da tuberculose bovina não é homogênea, existem países que já erradicaram a doença (Dinamarca, Holanda e Luxemburgo), países nos quais a prevalência da doença é extremamente pequena (Alemanha, Bélgica, Inglaterra, França, Grécia e Portugal) e outros onde a doença ainda não está suficientemente controlada (Itália, Irlanda e Espanha). [41]

Nas últimas duas décadas, vários inquéritos de ampla magnitude sobre tuberculose zoonótica foram publicados em diversas regiões desenvolvidas do mundo (Europa, Austrália, entre outros), revelando certa estabilidade da incidência do agente zoonótico.

Na Alemanha Oriental, 4,6% de todos os casos novos de tuberculose humana pulmonar diagnosticados em 1982 foram devidos a *M. bovis*. Essa porcentagem decresceu para 3,5 e 3,1% em 1983 e 1984, respectivamente. [71]

Um relato de caso na Alemanha descreveu que uma paciente de 70 anos foi internada decorrente de ulcerações orais. Na investigação, múltiplas biópsias da mucosa do seio maxilar esquerdo revelaram inflamação granulomatosa necrosante por micobactérias. Culturas microbiológicas foram realizadas subsequentemente identificando como agente causal *M. bovis*. Durante o tratamento, a paciente relatou que já havia sido tratada quando criança para uma doença pulmonar assim como uma colega da época de escola, apresentando, portanto, evidências de reativação de uma infecção latente, situação comum em regiões desenvolvidas, onde foram controladas as transmissões zoonóticas na atualidade. [72]

Um estudo no oeste da Irlanda durante o período de 1986 a 1990, região na qual a incidência de casos de tuberculose humana, comprovada por cultura, é alta (13,3/100.000), mostrou *M. bovis* como responsável por 6,3% de todos os casos de tuberculose humana confirmados nessa área. [73]

Ainda na Irlanda, durante 1998-2006, o laboratório de microbiologia do Hospital Universitário Cork, obteve isolados do CMT de 501 pacientes (68,5% dos casos notificados) residindo no sudeste da Irlanda (cidades Cork e Kerry) identificando 15 deles (3,0%) como *M. bovis*. A maior parte (81%) dos pacientes com tuberculose zoonótica possuía mais de 30 anos de idade. Infecção primária nesse grupo aconteceu várias décadas antes do diagnóstico, provavelmente por reativação de infecção adquirida mais cedo. Sete (63,6%) de 11 isolados analisados foram obtidos de escarro,

e, seis (54,5%) dos analisados, detectados de forma direta por baciloscopia positiva, possuindo, portanto, potencial para transmissão pessoa a pessoa. [74]

Tanto na Suécia como na Suíça, as proporções de *M. bovis* em casos de tuberculose humana confirmados por cultura são relativamente baixas. Na Suécia, em 2001 e 2002, a cultura de micobactérias foi positiva para o CMT em 84% e 86%, respectivamente. *M. bovis* foi encontrado em apenas 13 (1,8%) de 713 casos confirmados no período. [77]

Na Suíça, de 1995 a 1999, ocorreram apenas 72 (2,0%) casos de tuberculose zoonótica entre 3.546 casos de tuberculose humana confirmados por cultura; a maioria (88,8%) dos casos zoonóticos ocorreu em habitantes suíços. As proporções do agente zoonótico variaram de 1,4% a 2,9% no período. [78,79] De 2001 a 2004, a proporção de *M. bovis* foi de 25 (1%) em 1831 casos de tuberculose humana comprovados por cultivo, dos quais 24 eram suíços e possuíam média de idade de 79 anos. Com base nessa observação, assumiu-se que animais/bovinos infectados não são mais fonte de infecção do agente para humanos na Suíça. [80] Curiosamente, no mesmo país, foi comprovado, por biologia molecular, o primeiro caso bem documentado de transmissão de *M. bovis* de animais para o ser humano e de volta para animais, cujo paciente tinha sido exposto e contaminado pelo agente zoonótico ainda quando criança. [81]

Na França, em 1995, *M. bovis* foi responsável por 0,5% de todos os casos humanos de tuberculose. [82] Entretanto, outro estudo descreveu que em Lyon, França, 13 (2,34%) de 555 cepas do CMT isoladas de seres humanos foram *M. bovis.* [84] Essa incidência de *M. bovis* encontrada [84] foi considerada relativamente alta e maior que a de um estudo realizado há 10 anos no país. [82] A maioria dos pacientes (70%) havia nascido na França. Adicionalmente, pacientes franceses com doença por *M. bovis*, em contraste a pacientes nascidos fora do país, possuíam usualmente 50 anos ou mais de idade. O fato de não ter sido constatada nenhuma ligação genética entre as cepas de *M. bovis* isoladas e nenhuma evolução clonal fortaleceu as evidências de não estar havendo naquela região transmissão ativa do agente zoonótico, mas, principalmente, reativação de infecções primárias ocorridas antes da erradicação da tuberculose bovina no país. [84]

Por outro lado, um estudo realizado na Itália descreveu em coleção de 42 isolados humanos de *M. bovis* que um genótipo foi predominante em "cluster" de 15 (35,7%) de todos os analisados, sugerido transmissão ativa. [85] De forma similar, foi possível identificar o agente causador de um amplo surto, que se iniciou na Espanha e se disseminou para outros locais da Europa e para o Canadá, por meio da utilização de

genotipagem, baseado na homologia dos perfis moleculares das cepas, tendo sido identificadas amostras positivas para *M. bovis* MDR na população humana envolvida. [86,87,88,48]

Um estudo, publicado pela França, apresentou evidências de transmissão pessoa a pessoa de tuberculose causada por *M. bovis* de um pai, que havia trabalhado em matadouro, para sua filha, sendo um fato digno de nota: ambos os pacientes eram imunocompetentes. [75]

Relato na França descreveu que jovem paciente com infecção por *M. bovis* revelado através de eritema nodoso, em que a infecção foi provavelmente devido ao consumo de leite não pasteurizado no Marrocos. [76]

De forma similar ao levantamento nacional realizado na França, [82] a prevalência de *M. bovis* em todos os casos de tuberculose humana foi consiserada baixa, de aproximadamente 1%, no Reino Unido, onde um inquérito nacional revelou que essa bactéria estava envolvida em 0,5 a 1,5% de todos os casos de tuberculose. [83]

Ainda na Espanha, em estudo mais amplo entre 1980 e 2003, foram detectados 13 (0,95%) casos por *M. bovis* entre 1.366 casos de tuberculose detectados num Hospital Universitário em Madrid. Todos os 13 casos ocorreram entre 1994 e 1999; a média de idade dos pacientes era de 50 anos e 77% eram do sexo masculino. A forma mais frequente da tuberculose zoonótica foi pulmonar (77%), um risco potencial para a transmissão pessoa a pessoa. Quatro (30%) entre os 13 casos foram também positivos para o HIV. Sete pacientes, incluindo os quatro HIV positivos que morreram, tinham *M. bovis* MDR. Nenhum dos 13 casos zoonóticos de tuberculose foi em pacientes estrangeiros, entretanto, os autores ressaltam que é possível que uma re-emergência da doença por *M. bovis*, talvez na forma de tuberculose intestinal ou linfática, esteja ocorrendo no país em imigrantes vindos de países da União Européia que não controlam suficientemente a tuberculose bovina. [89]

Recentemente, um relato de caso na Espanha, mostrou homem de 78 anos com lesão na axila diagnosticada como lúpus *vulgaris* (tuberculose luposa), em que a amostra coletada do paciente e testada para Ziehl-Neelsen foi positiva para BAAR, e cultura da pele foi positiva para *M bovis*, a ecografia axilar revelou linfonodo inflamatório. O paciente foi diagnosticado com linfadenopatia tuberculosa e lúpus *vulgaris* devido a *M. bovis* .[90]

Na Toscana, região da Itália, a distribuição de casos de tuberculose pulmonar e extrapulmonar, classificados de acordo com as principais linhagens genotípicas do

CMT, durante o período de 2002 a 2005, mostrou que de 1.009 amostras, 17 (1,7%) foram classificadas como *M. bovis*. [85]

Na Holanda, 1,4% dos casos de tuberculose são causados por *Mycobacterium bovis.* Três pacientes com infecção por *M. bovis* foram atendidos em um hospital de referência, onde foi realizada uma análise retrospectiva de todas as doenças causadas por este agente na Holanda durante 1993 a 2007. A transmissão pessoa a pessoa não ocorreu, de acordo com as análises moleculares realizadas. Observou-se que dos casos ocorridos nesse período, tuberculose ganglionar acometia principalmente mulheres, enquanto que a tuberculose pulmonar afetada mais homens [91]

Ainda na Holanda, um estudo recente, mostrou em hospital do serviço regional de saúde municipal, uma evidência de transmissão pessoa a pessoa de tuberculose pulmonar causada por *M. bovis* de um idoso para um adulto jovem, baseando-se no grau de homologia entre as cepas detectadas. [92]

Um estudo no Reino Unido, realizado entre 1993 e 2003, mostrou que não houve aumento na incidência de *M. bovis* em seres humanos, apesar de um aumento significativo (5,26 vezes) na incidência da tuberculose bovina naquela região, no mesmo período do estudo. Os achados desse estudo indicaram que a combinação de medidas tomadas no Reino Unido para prevenir doença causada por *M. bovis* em seres humanos, entre elas a pasteurização de leite e derivados, têm sido altamente efetivas. De forma similar ao que foi verificado na França, esse trabalho demonstrou que a maioria dos casos por *M. bovis,* entre os nativos do Reino Unido, acontece em pessoas mais idosas, nascidas antes do advento do controle da tuberculose bovina, o que sugere se tratar, principalmente, de reativação de infecções primárias adquiridas antes do controle da doença animal na região, sendo o consumo de leite não-pasteurizado no passado a fonte de infecção mais provável. [93]

Por outro lado, apesar de a transmissão de *M. bovis* pessoa a pessoa ser considerada muito rara, em um trabalho conduzido no Reino Unido foi concluída a maior evidência de transmissão de *M. bovis* pessoa a pessoa até então publicada. Todos os pacientes com *M. bovis* na parte central da Inglaterra de 2001 a 2005 (n=20) foram identificados por DNA-fingerprinting, sendo um "cluster" constituído de seis pacientes com perfis moleculares semelhantes, os quais foram entrevistados. Todos os casos do "cluster" foram nascidos no Reino Unido e, diferentemente do encontrado na maior parte das publicações de países desenvolvidos com predominância de casos entre idosos, todos eram mais jovens entre 15 e 44 anos, nascidos após o advento do controle

da tuberculose bovina na região, o que fortalecia evidências a favor da transmissão mais recente. Todos do "cluster" tiveram contatos sociais comuns e apenas um possuiu contato zoonótico ou consumo de produtos lácteos não-pasteurizados, sugerindo que transmissão pessoa a pessoa teria ocorrido. [12]

Em Londres, estudo realizado entre 2005-2008 revelou um total de 129 casos de infecção por *M. bovis* em humanos, com a incidência anual variando de 0,065-0,047 casos por 100.000 pessoas. Isso mostra que a incidência pelo agente em humanos no Reino Unido continua a ser baixa. [94]

Na República Tcheca, casos de infecção por *M. bovis* em dois pacientes imunocomprometidos tiveram como fonte de disseminação procedimentos venosos, via cateter, sendo o agente confirmado por cultura de amostra extraída daquele instrumento.[95]

Em 2010, relato de caso descrito na Grécia diagnosticou tuberculose por *M. bovis* na cavidade oral de uma criança de seis anos de idade, imunocompente, uma forma rara de TB, que geralmente está associada a um envolvimento pulmonar primário. A criança residia em área urbana e o diagnóstico foi confirmado por biologia molecular.[96]

A Austrália e a Nova Zelândia iniciaram seus programas de controle da tuberculose bovina em 1970. A Austrália foi declarada "livre da doença em animais" em 1997, enquanto a Nova Zelândia encontra dificuldades para erradicar a tuberculose bovina devido à presença de reservatórios silvestres. [41]

Na população australiana, durante 1970-1994, *M. bovis* foi isolado de aproximadamente 1% dos casos de tuberculose humana. [97] Na Austrália Meridional verificou-se a ocorrência de cinco casos de *M. bovis*, em dois anos, em pacientes com história de emprego em matadouros, incidência maior que em anos anteriores, quatro deles (80%) com localização pleuro-pulmonar. Esses achados fortaleceram evidências que trabalhadores que lidam com o abate de bovinos ou processamento de carnes têm a profissão como risco ocupacinal para tuberculose zoonótica. [98]

A porcentagem de casos de tuberculose humana devidos a *M. bovis* parece ter decrescido na Nova Nova Zelândia de uma média de 7,2% de 1983 a 1990 [99] para aproximadamente 3% entre 1995-2002, [100]período no qual um estudo demonstrou *M. bovis* como responsável por 54 (2,7%) de 1.997 casos de tuberculose, a partir de dados de notificação, complementados com dados de três laboratórios de referência do país. Apenas 14 (25,9%) dos isolados humanos de *M. bovis* tiveram padrão genético idêntico

ao de isolados de gado, alces, marsupiais, furões, suínos e, ocasinalmente, gatos. Os autores advertiram que, mesmo em baixo nível, a transmissão de *M. bovis* de animais a seres humanos na Nova Zelândia continua acontecendo, sendo, entretanto, a contribuição relativa do agente zoonótico de 2,7% do total de casos de tuberculose humana mais alta que a relatada em outros países desenvolvidos. [100]

Um laboratório australiano de referência para micobactérias identificou em 2006, 905 casos confirmados por cultura microbiológica e isolamento de bactérias do CMT, sendo que a taxa de notificação anual foi de 4,4 casos por 100.000 habitantes. Das 905 amostras identificadas, 903 foram caracterizadas como *M tuberculosis* e apenas duas como *M. bovis*. [101]

A tabela 8 descreve casos de tuberculose zoonótica ocorridos na Europa e Oceania, separando-os por local, alvo do estudo (origem da identificação de *M. bovis*) e achados de relevância em cada artigo.

Tabela 8. Casos de tuberculose zoonótica ocorridos em países da Europa e Oceania

Local	Alvo do Estudo	Achado	Referência
França	Genotipagem de coleção suspeita de *M. bovis.*	Provaram que o primeiro surto de tuberculose hospitalar caracterizado fenotipicamente por Bouvet et al. 1993 como *M. bovis* MDR, era na realidade *M. tuberculosis*.	Gutiérrez et al. 1999. [111]
França	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas, inquérito nacional.	*M. bovis* representa 0,5% de todos os casos de tuberculose	Robert et al. 1999. [82]
França	Genotipagem de *M. bovis* em casos confirmados com cultura, Lyon.	11 (2%) de 555 isolados caracterizados, ausência de homologia entre as cepas de *M. bovis* isoladas (reativação)	Mignard et al. 2006. [84]
Espanha	Relatos de vários surtos hospitalares de ampla dimensão de tuberculose por amostras de *M. bovis* multidroga-resistentes (MDR).	O principal deles, iniciou em hospital da Espanha, atingindo um total de 141 pacientes (a maioria em co-infecção com HIV, tendo desfecho fatal), disseminando para outros lugares da Europa e para o Canadá.	Blásquez et al. 1997. [86] Rivero, 2001. [103] Schultsz, 1996. [88]
Espanha	Identificação de *M. bovis* em humanos usando culturas em um hospital de Madrid.	0,95% de 1366 casos de tuberculose devidos a *M. bovis*	Esteban et al. 2005. [89]
Espanha	Relato de casos.	9 casos de *M. bovis* em pacientes em quatro anos	Remacha, 2006. [112]
Itália	Genotipagem de coleção de *M. bovis*.	Um genótipo foi responsável por 32% dos isolados humanos	Lari et al. 2006. [85]
Itália	Genotipagem de coleção do Complexo *M. tuberculosis* de uma coleção de 1009 isolados.	Encontrou-se 17 isolados de *M. bovis*.	Lari et al., 2009. [113]
República Theca	Diagnósticado dois casos de *M. bovis* em pacientes imunocompetentes	A forma de disseminação foi através de cateter venoso	Homolka et al., 2010. [95]
Inglaterra	Formação de m cluster de 6 pacientes dentre vários suspeitos para *M. bovis*	1 paciente teve exposição zoonótica e teria transmitido via aerossóis o *M. bovis* aos demais	Evans et al., 2007. [12]
Holanda	Analise de 231 pacientes clinicamente infectados para *M. bovis*	136 pacientes apresentavam a forma extrapulmonar e 95 a forma pulomnar, Não foi evidenciada a tranmissão pessoa a pessoa.	Majoor et al., 2011. [91]

TUBERCULOSE ZOONÓTICA: UMA DOENÇA RE-EMERGENTE?

Nas publicações mundiais no período de 1990 a 2000 as principais preocupações manifestadas sobre a tuberculose zoonótica, principalmente pelos países industrializados, foram: a) possíveis impactos epidemiológicos da ocorrência de doença, por reativação ou infecção primária, em pacientes co-infectados pelo HIV; b) re-emergência da tuberculose zoonótica a partir de imigrantes de locais onde a tuberculose bovina é mais prevalente e c) epizootias de *M. bovis* em animais domesticados e selvagens, que podem transmitir o agente ao ser humano. Essas preocupações, com exceção da última (já apresentada no tópico anterior), serão mais discutidas a seguir.

Em países em desenvolvimento, particularmente aqueles em que a infecção por *M. bovis* está presente em animais e as condições favorecem a transmissão zoonótica, cogita-se que a epidemia de HIV/AIDS poderia contribuir para o desencadeamento de novos casos ou reativação de lesões dormentes de tuberculose zoonótica em pessoas co-infectadas pelos dois agentes em questão. Acredita-se que o HIV/AIDS possa transformar seres humanos de hospedeiros "acidentais" para "reservatórios" de *M. bovis*, complicando o controle tanto da tuberculose em seres humanos como em bovinos, visto que o agente zoonótico pode ser retransmitido de seres humanos a bovinos. [102]

Na Espanha, ocorreram grandes surtos, principalmente hospitalares, por amostras de *M. bovis* MDR, afetando, em sua maioria, co-infectados por HIV. Um desses surtos, de localização pulmonar e progressão rápida, envolveu 16 casos em Madrid e outros 20 em Málaga. [87] Outro surto em Málaga, envolveu 31 pacientes com desfecho fatal, 30 deles sendo co-infectados pelo HIV. [103] Na Holanda, ocorreu um caso de *M. bovis* MDR em pessoa infectada pelo HIV, que supostamente adquiriu a infecção zoonótica na Espanha, durante um dos surtos descritos. [88,87] Conforme aqui já apresentado em tópicos anteriores, foi evidenciada, também a transmissão pessoa a pessoa de *M. bovis* MDR de um paciente infectado pelo HIV, hospitalizado na Espanha, para um parente canadense, soronegativo para HIV, que tinha ido visitá-lo. [48] Com a utilização da técnica de comparação molecular "spoligotyping", foram evidenciadas amostras idênticas de *M. bovis* MDR nos surtos relatados em Madrid e Málaga. [86,87] Com a utilização da mesma técnica foi evidenciada, também, a ligação desse surto descrito com as amostras identificadas nos pacientes da Holanda e Canadá. [82,48]

Em um dos maiores surtos de tuberculose zoonótica por *M. bovis* MDR, a amostra identificada inicialmente na Espanha, foi disseminada para outros locais da Europa e para o Canadá, afetando ao todo 141 pessoas. [5] Em muitos pacientes desse surto a transmissão pessoa a pessoa de *M. bovis* foi evidenciada. Estes achados sugerem um alto risco de disseminação de *M. bovis* MDR via seres humanos como portadores, especialmente para partes da África, onde a infecção por *M. bovis* em animais e a infecção humana por HIV co-existem. Como seres humanos podem retransmitir *M. bovis* a animais, a presença de portadores humanos de *M. bovis* MDR nesses locais poderia propiciar ciclos contínuos de transmissão do agente de pessoas para animais, entre animais e desses novamente para os seres humanos. A ocorrência de surtos hospitalares de *M. bovis* MDR na Espanha e outros países ainda é mais preocupante dada a intrínseca resistência à pirazinamida característica do agente zoonótico. [75]

Foi constatada a re-emergência da tuberculose zoonótica em imigrantes dos Estados Unidos da América (EUA) vindos de locais onde a tuberculose bovina é mais prevalente, fazendo com que a prevalência da doença aumentasse nos EUA, na fronteira com o México, tanto em números absolutos como relativos. Além disso, a referida doença foi responsável por um terço dos casos de tuberculose em crianças nessa mesma região. [43,45,104] Esses pesquisadores alertaram que as altas prevalências de *M. bovis*, evidenciadas na fronteira mencionada, demandam reforço na vigilância para esse "esquecido patógeno". Como, nos três estudos citados, a maioria dos casos ocorreu em indivíduos de origem hispânica, principalmente mexicanos ou seus filhos, cogitou-se que rebanhos bovinos mexicanos fossem a fonte primária do agente zoonótico, visto que produtos lácteos não-pasteurizados são veículos transmissores de agentes zoonóticos e estão disponíveis na Baixa Califórnia, província mexicana limítrofe.

Finalmente, as evidências a favor da ligação do aumento da prevalência de tuberculose zoonótica na fronteira EUA-México e a origem da infecção em gado mexicano foram recentemente fortalecidas por meio de um estudo molecular empregando "spoligotyping". Genótipos de amostras de *M. bovis* isoladas de seres humanos do Sul da Califórnia foram comparadas com as isoladas de bovinos dos EUA e México para explorar as possíveis origens da infeção humana naquela região. Acima de 91% (97/106) dos isolados humanos de *M. bovis* tinham perfis moleculares idênticos aqueles encontrados em bovinos mexicanos. [49] O aumento da imigração de mexicanos para os EUA nos anos anteriores ao estudo, aumentou, também, o potencial de ocorrência de casos humanos de *M. bovis* em outras partes desse país.

A maioria dos casos de tuberculose zoonótica detectados na cidade de Nova York, entre 2001 e 2004, ocorrereu em adultos nascidos fora do país (96%), principalmente México, ou em filhos de pais mexicanos (83%), de forma similar aos relatos ocorridos na fronteira EUA-México. [46]

Essa situação pode se agravar pela constatação de que altas taxas de co-infecção HIV/*M. bovis* foram evidenciadas na fronteira dos EUA-México. Em San Diego (EUA), 17,8% a 23,0% dos casos de tuberculose por *M. bovis* ocorreram em pessoas co-infectadas pelo HIV. [43,44] Na cidade de Nova York, sete (28%) dos 27 casos de tuberculose zoonótica foram positivos também para HIV. [46] Outros relatos também descrevem a ocorrência de *M. bovis* em imigrantes em países desenvolvidos vindos de regiões em desenvolvimento. [97,89]

Apesar de relatos contínuos de doença humana pelo agente zoonótico, a relevância global de *M. bovis* como causa de tuberculose humana permanece baixa se comparada a de *M. tuberculosis*. Em países onde a incidência de tuberculose humana está declinando progressivamente, a tuberculose zoonótica permanece essencialmente estável, em níveis muito baixos. [105]

Entretanto, "embora possa ser considerada como um assunto regional, a tuberculose bovina nas nações em desenvolvimento, principalmente África, deveria ser encarada no contexto do efeito devastador da pandemia de AIDS/HIV". [19]

Portanto, estudos epidemiológicos mais extensivos sobre a importância de *M. bovis* no contexto global da tuberculose humana e a adoção de medidas de controle são urgentemente requeridos em regiões em desenvolvimento. [9] Adicionalmente, a WHO recomenda colaboração entre serviços médicos e veterinários para o estudo e controle desta zoonose.

A correlação direta entre a infecção por *M. bovis* em gado e a tuberculose zoonótica em seres humanos tem sido documentada em países desenvolvidos, mas essa informação é escassa nas regiões em desenvolvimento. Isso tem relação com a percepção equivocada de *M. bovis* como agente causador de doença exclusivamente animal nessas regiões em desenvolvimento onde a tuberculose bovina é um problema de saúde pública.[106,107] O conhecimento sobre importância da tuberculose bovina nos casos humanos tem de ser esclarecido e divulgado para o efetivo controle da própria doença em rebanhos.[107]

Como inquéritos epidemiológicos são normalmente caros, uma possibilidade para os países em desenvolvimento seria estudos de tuberculose zoonótica incluídos em

outros inquéritos nacionais de tuberculose humana, como no inquérito nacional de multidrogarresistência, que acontece no Brasil e em muitos desses países. Mas, para este propósito, entre os meios para o cultivo de micobactérias, deveriam ser incluídos os que favorecem o crescimento do *M. bovis* (à base de ovo contendo piruvato ou meios semissintéticos).

Recomendam-se, ainda, esforços educativos direcionados a populações de alto risco a infecções por *M. bovis.* [19] Trabalhadores que lidam com o abate de animais e com indústria de carne ou leite continuam em risco, particularmente em áreas e países com uma agroindústria extensiva nos quais a população bovina ainda está infectada por *M. bovis*. Além disso, a disseminação do agente de animais a seres humanos, em países em desenvolvimento, permanece como um perigo real, principalmente devido ao consumo de leite contaminado. [106]

Entretanto, globalmente, ao menos dois preceitos para a prevenção e controle da tuberculose zoonótica em seres humanos continuam válidas. O primeiro é manter e reforçar a "fiscalização" do processamento térmico/pasteurização do leite e seus derivados, bem como a proteção de trabalhadores que estão ligados diretamente com atividades relacionadas a animais, especialmente na indústria de carne. O segundo fortalecer a estratégia de "tratamento supervisionado" do paciente (DOTS). Deve ser ressaltado ainda que trabalho recente revelou fortes indícios de que, ao menos para casos de tuberculose pulmonar com baciloscopia positiva, a taxa de transmissão por contato é comparável entre *M. bovis* e *M. tuberculosis*. Assim sendo, os autores sugeriram que investigações de possíveis pessoas que tiveram contatos com casos pulmonares de *M. bovis* devem ser conduzidas da mesma maneira que para *M. tuberculosis.* [104]

Finalmente, para o controle da tuberculose bovina e diminuição dos riscos potenciais de transmissão de *M. bovis* aos seres humanos, em muitas situações faz-se necessária colaboração transnacional. [43,45] Como no caso da re-emergência de tuberculose zoonótica que está ocorrendo nos EUA, principalmente em imigrantes de origem hispânica, aprendemos a dura condição de que ninguém está seguro até que todos do mundo estejam. [100]

PERSPECTIVAS FUTURAS E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esforços nos setores de ensino, pesquisa e saúde, visando elucidar a importância epidemiológica de *M. bovis* tanto em humanos quanto em animais devem ser recomendados. Reforça-se ainda a necessidade da implantação de políticas e programas de controle e erradicação da tuberculose bovina em países em desenvolvimento, principalmente onde a prevalência da tuberculose bovina é alta. O controle e erradicação de *M. bovis* em humanos começam por seus respectivos controle e erradicação nos bovinos.

Existem, porém, diversos fatores que podem dificultar ou até mesmo servir de impedimento para a aplicação das estratégias de controle da tuberculose bovina. Entre eles, destacam-se os custos operacionais, a dimensão do rebanho bovino, os diferentes sistemas de criação, a extensão territorial e, conseqüentemente, a existência de fronteiras com outros países, assim como as grandes diferenças socioeconômicas e culturais.

Algumas limitações desta revisão sistemática devem ser discutidas. Os dados de prevalência obtidos de diferentes artigos, por terem delineamentos diversos, não podem ser comparados de forma direta. Houve uma grande diversidade nos estudos, alguns resultaram de exames de banco de amostras sem uma definição clara da população de abrangência e de critérios de seleção, utilizando delineamentos e análises retrospectivas, outros se preocuparam com uma rigorosa definição da população do estudo e dos critérios de inclusão, utilizando delineamentos e análises propospectivas. Houve diversidade também nos métodos de diagnóstico utilizados na caracterização das micobactérias. Foi verificada também uma grande variação quanto à abrangência dos estudos, reunindo desde estudos locais restritos a um único centro até levantamentos nacionais. Deve ser ressaltado ainda que este estudo só consultou publicações indexadas nas bases Scielo e PudMed, o que poderia subestimar estudos publicados em revistas locais, que ficaram fora ou entraram em outras bases.

O Brasil ainda possui um número baixo de estudos sobre tuberculose zoonótica quando comparado à Argentina, país com taxas de prevalência de *M. bovis* similares em animais. Algumas possíveis explicações para esse baixo número de publicações foram levantadas. No Brasil, o setor agricultura encara a tuberculose como um problema eminentemente econômico, que afeta as exportações, e negligencia, em geral, a sua relação com a saúde pública. Outro fator que pode contribuir para esse

negligenciamento se faz pelas características do diagnóstico da TB humana no país. *M. bovis* é em geral subestimado pelos centros de referência de tuberculose do país, pelo fato de a baciloscopia ser o diagnóstico mais disseminado. Quando o isolamento primário do CMT acontece, nesta rotina diagóstica é utilizado eminentemente o meio de cultura Löwenstein-Jensen, que não favorece o isolamento de amostras de campo de *M. bovis*. Como consequência, os estudos realizados no Brasil não são representativos de uma cidade, estado ou até mesmo do país, ficando na maioria das vezes restritos a uma pequena área ou população.

Finalmente, essa revisão sistemática evidencia a importância zoonótica de *M. bovis* na tuberculose humana, reforçando a necessidade da efetivação de programas e políticas de controle da tuberculose bovina pelos órgãos de defesa animal, a qual deve ser encarada como um problema de saúde pública.

COLABORADORES

Os quatro autores contribuíram para o desenvolvimento desse estudo. O planejamento, as atividades de campo e a formação do banco de dados foi realizado por SILVA, MR. As análises dos dados e a primeira versão deste artigo foi feita por ROCHA, BB. As correções foram feitas por SILVA, MR; NUNES, GN e MOREIRA, MAS. Finalmente todos os autores revisaram o artigo antes da submissão.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Gado de Leite pelo apoio na execução do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado concedida a ROCHA, BB e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (suporte financeiro CNPq - 410595/2006-3/MCT/CNPq/MS-SCTIEDECIT 25/2006) pelos recursos destinados ao projeto. Finalmente, ao CNPq pela bolsa de produtividade concedida à MOREIRA, MAS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zink AR, Nerlich AG. Molecular strain identification of the *Mycobacterium tuberculosis* complex in archival tissue samples. Journal of Clinical Patology. 2004; 57: 1185-192.

2. David H, Brum L, Prieto E. Manual de Micobacteriologia em Saúde Pública: Princípios e Métodos. Lisboa: Instituto de Higiene e Medicina Tropical, 1994.

3. Wedlock D N, Skinner M A, Lisle G W, Buddle B M. Control of *Mycobacterium bovis* infections and the risk to human populations. Microbes Infect. 2002; 4: 471-80.

4. Fawaz T, Zamil F, Mazrou A. Abdominal tuberculosis in children-Case Report. Curr Pediatr Res. 2010;14 (2):106-7.

5. Cataldi A, Romano MI. Tuberculosis caused by other members of the M. tuberculosis complex. In: Palomino JC, Leão SC, Ritacco V. (Ed.). Tuberculosis 2007: from basic science to patient care. Belgium: Institute of Tropical Medicine. 2007: 287-314. http://www.tuberculosistextbook.com/ pdf/othmemb.pdf (acessado em 23/fev./2013).

6. Barrera L, Kantor IN de. Nontuberculous mycobacteria and *Mycobacterium bovis* as a cause of human disease in Argentina. Trop. Geo. Med.1987; 39: 222-27.

7. Anon Zoonotic tuberculosis and food safety. Report of the Food Safety Authority of Ireland Scientific Committee. Dublin: Food Safety Authority of Ireland, 2003.

8. Konno K, Feldman FM, Mcdermott W. Pyrazinamide susceptibility and amidase activity of tubercle bacillus. Am. Rev. Respir. Dis.1967; 95: 461-69.

9. World Health Organization. Report of the Who meeting on zoonotic tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) with the participation of FAO. Technical Note. Geneva: WHO; 1993.

10. World Health Organization. Zoonotic tuberculosis (*Mycobacterium bovis*): memorandum from a WHO meeting with the participation of FAO. Bull. World Health Organ. 1994; 72: 851-57.

11. Blumberg HM, Junior MKL. Tuberculose. http://www.medicinanet.com.br/conteudos/acpmedicine/5217/tuberculosehenry_m_blumberg_michael_k_leonard_jr.htm?_mobile=off (acessado 05/fev./2013)

12. Evans JT, Smith EG, Banerjee A, Smith RMM, Dale J, Innes JA, et al. Cluster of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*: evidence for person-to-person transmission in the UK. Lancet. 2007; 369: 1270-76.

13. Acha PN, Szyfres B. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. Bacterioses and Mycoses. 3. ed. Washington: Pan American Health Organization, 2003:107-297.

14. Abrahão RMCM. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e importância dos reservatórios animais. Dissertação, Universidade de São Paulo, 1998.

15. Gervois M, Vaillant J M, Fontaine JF, Laroche G, Dubois G. Epidemiologie de l'infection humaine par *Mycobacterium bovis*. Arch Monaldi. 1972; 27: 294-317.

16. Cosivi O, Grange JM, Daborn CJ, Raviglione MC, Fujikurat T, Cousins D, et al. Zoonotic Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in Developing Countries. Emerg Infect Dis. 1998; 4:59-70.

17. Rasolofo-Razamparany V, Menard D, Rasolonavalona T, Ramarokoto H, Rakotomanana F, Auregan G, et al. Prevalence of *Mycobacterium bovis* in human pulmonary and extra-pulmonary tuberculosis in Madagascar. Int. J. Tuberc. Lung Dis.1999; 3:632-34.

18. Rasolofo-Razanamparany V, Quirin R. et al. Usefulness of restriction fragment length polymorphism and spoligotyping for epidemiological studies of *Mycobacterium bovis* in Madagascar: description of new genotypes. Vet. Microbiol.2006;114: 115-22.

19. Ayele WY, Neill SD, Zinsstag J, Weiss MG, Pavlik I. Bovine tuberculosis: an old disease but a new threat to Africa. Int. J. Tuberc. Lung. Dis.2004; 8:924-37.

20. Idigbe EO, Anyiwo CE, Onwujekwe DI. Human pulmonary infections with bovine and atypical mycobacteria in Lagos, Nigeria. J. Trop. Med. Hyg.1986; 89:143-48.

21. Mawak JD, Gomwalk NE, Bello CSS, Kandakai-Olukemi YT. Human Pulmonary Infections with Bovine and Environment (Atypical) Mycobacteria in Jos, Nigeria. Ghana. Med. J. 2006; 40, n. 4:132–36.

22. Michel AL, Müller B, Van Helden, PD. *Mycobacterium bovis* at the animal-human interface: a problem, or not? Veterinary Microbiology. Janeiro 2010.

23. World Health Organization. Global tuberculosis control. Geneva: WHO; 1997. p. 1-221.

24. Elsabban MS, Lofty O, Awad WM, Soufi HS, Mikhail DG, Hammam HM. et al. Bovine tuberculosis and its extent of spread as a source of infection to man and animals in Arab Republic of Egypt. In: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease Conference on Animal Tuberculosis in Africa and the Middle East, 1992, Cairo, Egypt. Proceedings.Paris: The Union, 1992.

25. Nafeh MA, Medhat A, Abdul-Hameed AG, Ahmad YA, Rashwan NM, Strickland GT. Tuberculous peritonitis in Egypt: the value of laparoscopy in diagnosis. Am. J. Trop. Med. Hyg., v. 47, p. 470-477, 1992.

26. Mfinanga SG, Morkve O, Kazwala RR, et al. Mycobacterial adenitis: role of *Mycobacterium bovis*, non-tuberculous mycobacteria, HIV infection, and risk factors in Arusha, Tanzania. East. Afr. Med. J., v. 81, p. 171-178, 2004.

27. Kazwala RR, Kusiluka LJ, Sinclair K, Sharp JM, Daborn CJ. The molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* infections in Tanzania. Vet. Microbiol., v. 112, p. 201-210, 2005.

28. Kidane D, Olobo JO, Habte A, et al. Identification of the causative organism of tuberculous lymphadenitis in Ethiopia by PCR. J. Clin. Microbiol., v. 40, p. 4230-4234, 2002.

29. Koeck JL, Bernatas JJ, Gerome P, et al. Epidemiology of resistance to antituberculosis drugs in *Mycobacterium tuberculosis* complex strains isolated from adenopathies in Djibouti. Med. Trop., v. 62, p. 70-72, 2002.

30. Cleaveland S, Shaw DJ, Mfinanga SG, Shirima G, Kazwala RR, Eblate E. *Mycobacterium bovis* in rural Tanzania: risk factors for infection in human and cattle populations. Tuberculosis. Janeiro, 2007.

31. Cadmus S, Palmer S, Okker M, et al. Molecular analysis of human and bovine tubercle bacilli from a local setting in Nigeria. J. Clin. Microbiol., v. 44, p. 29-34, 2006.

32. Mposhy M, Binemo-Madi C, Mudakikwa B. Incidence de la tuberculose bovine sur La santé des populations du Nord-Kivu (Zaïre). Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop., v. 36, p. 15-8, 1983.

33. Rigouts L, Maregeya B, Traore H, Collart JP, Fissette K, Portaels F. Use of DNA restriction fragment typing in the differentiation of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from animals and humans in Burundi. Tuber Lung Dis., v. 77, p. 264-268, 1996.

34. Byarugaba F, Etter EMC, Godreiul S, Grimaud P. Pulmonary Tuberculosis and *Mycobacterium bovis*, Uganda. Emerging Infectious Diseases. Vol. 15, n. 1, January 2009. www.cdc.gov/eid

35. Wei CY, Hsu Y, Chou WJ, Lee CP, Tsao WL. Molecular and histopathologic evidence for systemic infection by *Mycobacterium bovis* in a patient with tuberculous enteritis, peritonitis, and meningitis: a case report. Kaohsiung J. Med. Sci., v. 20, p. 302-307, 2004.

36. Prasad HK, Singhal A, Mishra A, et al. tuberculosis in India: potential basis for zoonosis. Tuberculosis (Edinb), v. 85, p. 421-428, 2005.

37. Shah NP, Singhal A, Jain A, Kumar P, Uppal SS, Srivatsava MVP, et al. Occurrence of Overlooked Zoonotic Tuberculosis: detection of *Mycobacterium bovis* in Human Cerebrospinal Fluid. Journal of Clinical Microbiology, v. 44, p. 1352-1358, 2006.

38. Velayati AA, Farnia P, Boloorsaze MR, Sheikholslami MF, Khalilzadeh S, Hakeeme SS, et al. *Mycobacterium bovis* infection in children in the same family: transmission through inhalation. Monaldi Archives Chest Disease, 2007.

39. Jou R, Huang WL, Chiang CY. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*, Taiwan. Emerg. Infect. Dis., v. 14, p. 515–517, 2008.

40. Moda G, Daborn CJ, Grange JM, Cosivi O. The zoonotic importance of *Mycobacterium bovis*. Tubercle and Lung Disease. 1996, v. 77, 103-108.

41. Neto JSF, Bernardi F. O controle da tuberculose bovina. Higiene Alimentar, v.17, p. 25-31, 2003.

42. Karlson AG, Carr DT. Tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*. Report of six cases: 1954-1968. Ann. Intern. Med. v. 73, p. 979-983, 1970.

43. Dankner WM, Waecker NJ, Essey MA, Moser K, Thompson M, Davis CE. *Mycobacterium bovis* infections in San Diego: a clinicoepidemiologic study of 73 patients and a historical review of a forgotten pathogen. Medicine, v. 72, p. 11-37, 1993.

44. Lobue PA, Betacourt W, Peter C, Moser KS. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* disease in San Diego County, 1994–2000. Int. J. Tuberc. Lung Dis., v. 7, p. 180-185, 2003.

45. Dankner WM, Davis CE. *Mycobacterium bovis* as a significant cause of tuberculosis in children residing along the United States-Mexico border in the Baja California region. Paediatrics, v. 105, p. e79, 2000.

46. Winter A, Driver C, Macaraig M, Clark C, Munsiff SS, Pichardo C, et al. Tuberculosis Cases caused by *Mycobacterium bovis* Infections, New York City, 2001–2004. MMWR, v. 54, p. 605-608, 2005.

47. Wilkins MJ, Meyerson J, Bartlett PC, Spieldenner SL, Berry DE, Mosher LB, et al. Human *Mycobacterium bovis* Infection and Bovine Tuberculosis Outbreak, Michigan, 1994–2007. Emerg. Infect. Dis. v. 14, p.657-660, 2008.

48. Long R, Nobert E, Chomyc S, Van Embden J, Mcnamee C, Rey Duran R, et al. Transcontinental spread of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., v. 159, p. 2014-2017, 1999.

49. Rodwell TC, Kapasi AJ, Moore M, Milian-Suazo F, Harris B, Guerrero LP, et al. Tracing the origins of *Mycobacterium bovis* tuberculosis in humans in the USA to cattle in Mexico using spoligotyping. Int. J. Infect. Dis. v. 14, p.e129-e135, 2010.

50. Park D, Qin H, Jain S, Preziosi M, Minuto JJ, Mathews WC, Moser KS, et al. Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in patients coinfected with human immunodeficiency virus. Clinical Infection Disease. Dezembro, 2010.

51. Fanning A, Edwards S. *Mycobacterium bovis* infection in human beings in contact with elk (Cervus elaphus) in Aalberta, Canada. Lancet. v. 16, p.1253–1255, 1991.

52. Liss GM, Wong L, Kittle DC, Simor A, Naus M, Martiquet P, et al. Occupational exposure to *Mycobacterium bovis* infection in deer and elk in Ontario. Can. J. Public Health. v. 85, p.326–329, 1994.

53. Kantor IN, Ritacco V. An update on bovine tuberculosis programmes in Latin American and Caribbean countries. Vet Microbiol, v. 112, p. 111–118, 2006.

54. Mezzadri FP. Cenário atual da pecuária de corte. Aspecto do Brasil com foco no estado do Paraná. Governo do estado do Paraná, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Departamento de Economia Rual – Divisão de Conjuntura Agropecuária, 2007.

55. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose [série on-line]. Brasília, 2001. http://www.agricultura.gov.br (acessado em 23/fev./2013).

56. Silva MR, Teixeira SR, Fernandes RF, Oliveira LD, Rodrigues VB. Leite: possibilidades de um grande alimento na promoção da segurança alimentar. In: Yamaguchi LCT, Mendes LCR, Lima IB, Rodrigues CC. Pecuária de Leite: novos desafios. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2005. p. 65-77.

57. Pan American Health Organization. Health conditions in the Americas, 1990. Washington (DC): PAHO, 1991. v. 1. (Scientific publication 524).

58. Sequeira De Latini MD, Latini AO, Lopez ML, Cecconi JO. Tuberculosis bovina en seres humanos. 2a. parte: periodo 1977-1989. Rev. Argent. Torax, v. 51, p. 13-16, 1990.

59. Peluffo G, Kantor IN de. Bacteriologic diagnosis of extrapulmonary tuberculosis in a general hospital. Rev. Argent. Microbiol., v. 14, p. 91-96, 1982.

60. Zumarraga MJ, Martin C, Samper S, et al. Usefulness of spoligotyping in molecular epidemiology of *Mycobacterium bovis* related infections in South America. J. Clin. Microbiol., v. 37, p. 296-303, 1999.

61. Cordova E, Gonzalo X, Boschi A, Lossa M, Robles M, Poggi S, et al. Human *Mycobacterium bovis* infection in Buenos Aires: epidemiology, microbiology and clinical presentation. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. Janeiro, 2012.

62. Feldman J. Tuberculose Humana de origem bovina. Belo Horizonte: Imprensa oficial, 1955. 239 p. Tese de (Concurso para catedrático de tisiologia). Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais, 1955.

63. Corrêa CNM, Corrêa WM. Tuberculose humana por bacilo bovino em São Paulo, Brasil. Arq. Inst. Biol., v. 41, p. 131-134, 1974.

64. Kantor IN de, Ambroggi M, Poggi S, Morcillo N, Silva Telles MA da, Osório Ribeiro M, et al. Human *Mycobacterium bovis* infection in ten Latin American countries. Tuberculosis, v. 88, n. 4, p. 358-365, 2007.

65. Ordoñez PT, Sauzo FM, Flores MAS, Casillas ICR. Aislamiento e identificación de *Mycobacterium bovis* a partir de muestras de expectoración de pacientes humanos com problemas respiratórios crônicos. Vet. Méx., v. 30, p. 227-229, 1999.

66. Pérez-Guerrero L, Milián-Suazo F, Arriga-Díaz C, Romero-Torres C, Escartín-Chávez M. Epidemiología Molecular de las tuberculosis bovina y humana em uma zona endêmica de Querétaro, México. Salud Publica Mex., v. 50, p. 286-291, 2008.

67. Cicero R, Olivera H, Hernández-Solis A, Ramírez-Casanova E, Escobar-Gutiérrez A. Frequency of *Mycobacterium bovis* as an etiologic agent in extrapulmonary tuberculosis in HIV-positive and -negative Mexican patients. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases. Maio, 2009.

68. Milián-Suazo F, Pérez-Guerrero L, Arriaga-Díaz C, Escartín-Chávez M. Molecular epidemiology of human cases of tuberculosis by *Mycobacterium bovis* in Mexico. Prev Vet Med. 2010 Oct 1;97(1):37-44

69. Portillo-Gómez L, Sosa-Iglesias EG. Molecular identification of *Mycobacterium bovis* and the importance of zoonotic tuberculosis in Mexican patients. The international journal of tuberculosis and lung disease. Outubro, 2011.

70. Mancilla EM, Martínez HA, PalaVecino BC, et al. Variantes genéticas de *Mycobacterium tuberculosis* aisladas de pacientes de la Xª Región de Chile. Rev. Chil. Infectol., v. 23, p. 220-225, 2006.

71. Kappler W, Kalich R, Fischer P. Incidence and significance of lung diseases caused by tuberculosis bacteria and atypical mycobacteria in East Germany. Z. Erkr. Atmungsorgane, v. 167, p. 42-46, 1986.

72. Ernst D, Bange FC, Rana A, Baerlecken N, Puls F, Schmidt RE, et al. Reactivation of tuberculosis with *Mycobacterium bovis* infection of the oral mucosa during immunosuppression. Deutsche Medizinische Wochenschrift. Outubro, 2011.

73. Cormican MG, Flynn J. Tuberculosis in the West of Ireland 1986-1990. Ir J Med Sci, v.161, p.70-72, 1992.

74. Ojo O, Sheehan S, Corcoran GD, Okker M, Gover K, Nikolayevsky V, et al. *Mycobacterium bovis* strains causing smear-positive human tuberculosis, southwest Ireland. Emerg Infect Dis, v. 14, p. 1931-1934, 2008.

75. Sunder S, Lanotte P, Godreuil S, Martin C, Boschiroli ML, Besnier JM. Human-to-human transmission of tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* in immunocompetent patients. Journal of Clinical Microbiology. Abril, 2009.

76. Méchaï F, Soler C, Aoun O, Fabre M, Mérens A, Imbert P, et al. Primary *Mycobacterium bovis* infection revealed by erythema nodosum. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease. *Agosto, 2011.*

77. Romanus V. The Swedish Tuberculosis Index 2001 and 2002. Sweden: Swedish Institutefor infectious Disease Control/Swedish Heart Lung Foundation Karlshamn, 2004.

78. Office Fédéral De La Santé Publique. Tuberculose en Suisse:1995-1998. Bull. OFSP, n.1, p.8-12.2000

79. Office Fédéral De La Santé Publique. La tuberculose en Suisse em1999 et 2000. Bull. OFSP, n.9, p.168–174, 2002.

80. Office Fédéral De La Santé Publique. La tuberculose en Suisse de 2001 à 2004. Bull OFSP, n. 22: 428-433, 2006.

81. Fritsche A, et al. *Mycobacterium bovis* tuberculosis: from animal to man and back. International Journal of Tuberculosis and Lung Disease, v. 8, p. 903–904, 2004.

82. Robert J, Boulahbal F, Trystram D, Truffot-Pernot C, Benoist AC de, Vincent V, et al. A national survey of human *Mycobacterium bovis* infection in France. Int. J. Tuberc. Lung Dis., v. 3, p. 711-714, 1999.

83. De La Rua-Domenech R. Human *Mycobacterium bovis* infection in the United Kingdom: incidence, risks, control measures and review of the zoonotic aspects of bovine tuberculosis. Tuberculosis, v. 86, p. 77-109, 2006.

84. Mignard S, Pichat C, Carret G. *Mycobacterium bovis* infection, Lyon, France. Emerg. Infect. Dis., v. 12, p. 1431-1433, 2006.

85. Lari N, Rindi L, Bonanni D, Tortoli E, Garzelli C. Molecular Analysis of Clinical Isolates of *Mycobacterium bovis* Recovered from Humans in Italy. J. Clin. Microbiol., v. 44, p. 4218-4221, 2006.

86. Blázquez J, Monteros LEE de Los, Samper S, Martín C, Guerrero A, et al. Genetic characterization of multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* strains from a hospital outbreak involving human immunodeficiency virus–positive patients. J. Clin. Microbiol., v. 35, p. 1390-1393, 1997.

87. Samper S, Martín C, Pinedo A, Rivero A, Blazquez J, et al.. Transmission between HIV-infected patients of multidrug-resistant tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*. AIDS, v. 11, p. 1237-1242, 1997.

88. Schultsz C, Kuijper EJ, Van Soolingen D, Prints JM. Disseminated infection due to multidrug-resistant *Mycobacterium bovis* in patient who was seropositive for human immunodeficiency. Clin. Infect. Dis., v. 23, p. 841-843, 1996.

89. Esteban J, Robles PS, Jimenez M, Fernandez Guerrero ML. Pleuropulmonary infections caused by *Mycobacterium bovis*: a re-emerging disease. Clin Microbiol Infect; v. 11, p.840-843, 2005.

90. Jaka-Moreno A, López-Núñez M, López-Pestaña A, Tuneu-Valls A. Lupus vulgaris caused by *Mycobacterium bovis*. Actas Dermosifiliogr. Abril, 2012.

91. Majoor CJ, Magis-Escurra C, Ingen JV, Boeree MJ, Soolingen DV. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* disease in humans, The Netherlands, 1993-2007. Department of Pulmonology, Academic Medical Center, Amsterdam, The Netherlands, 2011.

92. Akkerman O, Van Der Loo K, Nijmeijer D, Van Der Werf T, Mulder B, et al. *Mycobacterium bovis* infection in a young Dutch adult: transmission from an elderly human source? Medical Microbiology and Immunology. Agosto, 2012.

93. Jalava K, Jones JA, Goodchild, T. et al. No increase in human cases of *Mycobacterium bovis* disease despite resurgence of infections in cattle in the United Kingdom. Epidemiol. Infect., v. 135, p. 40-45, 2007.

94. Mandal S, Bradshaw L, Anderson LF, Brown T, Evans JT, Drobniewski F, et al.. Investigating transmission of *Mycobacterium bovis* in the United Kingdom in 2005 to 2008. Journal of Clinical Microbiology. Maio, 2011

95. Homolka J, Sterclová M, Bláha K. Catheter infection caused by *Mycobacterium bovis.* Casopis Lekaru Ceskych. Setembro, 2010.

96. Maragou C, Theologie-Lygidakis N, Ioannidis P, Stenou A, Kanavaki S, Iatrou I, et al. Primary tooth abscess caused by *Mycobacterium bovis* in an immunocompetent child. European Journal of Pediatrics. Setembro, 2010.

97. Cousins DV, Dawson DJ. Tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in the Australian population: cases recorded during 1970–1994. Int. J. Tuberc. Lung. Dis.1999;3: 715–21.

98. Robinson P, Morris D, Antic R. *Mycobacterium bovis* as an occupational hazard in abattoir workers. Aust. N. Z. J. Med.1989;19: 409-10.

99. Brett JL, Humble MW. Incidence of human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*. New Zealand Medical Journal. 1991;104:13-14.

100. Baker MG, Lopez LD, Cannon MC, De Lisle GW, Collins DM. Continuing *Mycobacterium bovis* transmission from animals to humans in New Zealand. Epidemiol. Infect.2006;134:1068-73.

101. Lumb R, Bastian I, Gilpin C, Jelfs P, Keehner T, Sievers A. Tuberculosis in Australia: bacteriologically confirmed cases and drug resistance 2006 a report of the Australian Mycobacterium Reference Laboratory Network. Communicable Diseases Intelligence. Março, 2008.

102. Grange JM. *Mycobacterium bovis* infection in human beings. Tuberculosis. 2001; 81:71-77.

103. Rivero A, Márquez M, Santos J, Pinedo A, Sánchez MA, Esteve A, et al. High rate of tuberculosis reinfection during a nosocomial outbreak of multidrug-resistant tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis* strain B. CID. 2001;32:159-61.

104. Lobue PA, Leclair JJ, Moser KS. Contact investigation for cases of pulmonary *Mycobacterium bovis.* Int. J. Tuberc. Lung. Dis.2004; 8: 868-72.

105. Thoen C, Lobue P, Kantor IN de. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. Veterinary Microbiology. 2006;112:339-45.

106. Davies PDO. Tuberculosis in humans and animals: are we a threat to each other? J R Soc Med. 2006; 99:539-40.

107. Anaelom NJ, Ikechukwu OJ, Sunday EW, Nnaemeka UC. Zoonotic tuberculosis: A review of epidemiology, clinical presentation, prevention and control. Journal of Public Health and Epidemiology. 2010;2:118-24.

108. Kazwala RR, Daborn CJ, Sharp JM, Kambarage DM, Jiwa SF, Mbembati NA. Isolation of *Mycobacterium bovis* from human cases of cervical adenitis in Tanzania: a cause for concern? Int. J. Tuberc. Lung. Dis.2001; 5:87-91.

109. Dreesen DW, Wood AR. A human case of *Mycobacterium bovis* infection in Georgia. Am Rev Respir Dis. 1970 Feb; 101(2):289–292.

110. Winthrop KL, Scott J, Brown D, Jay MT, Rios R, Mase S, Richardson D, Edmonson A, MacLean M, Flood J. 2005. Investigation of human contacts: a *Mycobacterium bovis* outbreak among cattle at a California dairy. The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 9: 809-813.

111. Gutiérrez MC, Galán JC, Blázquez J, Bouvet E, Vincent V 1999. Molecular markers demonstrate that the first described multidrug-resistant Mycobacterium bovis outbreak was due to Mycobacterium tuberculosis. J Clin Microbiol 37: 971-975.

112. Remacha MA, Parra MI, Esteban A. Pulmonary tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in León. Int J Tuberc Lung Dis 10(3):349–350. 2006.

113. Lari N, Rindi L, Cristofani R, Rastogi N, Tortoli E, Garzelli C. Association of Mycobacterium tuberculosis complex isolates of bovis and Central Asian (CAS) genotypic lineages with extrapulmonary disease. Clin. Microbiol. Infect. 15,538–543. 2009.

CAPÍTULO II

Prevalência e fatores associados ao consumo de leite cru em uma população de alta vulnerabilidade social no Brasil

Prevalence and associated factors to raw milk consumption in a population of high social vulnerability in Brazil

Prevalencia y factores asociados con el consumo de leche cruda en una población de alta vulnerabilidad social en Brasil

Artigo a ser submetido ao "**Cadernos de Saúde Pública"**

ROCHA, B.B.; SILVA, M.R.; SOUZA, G.N.; MOREIRA, M.A.S.

RESUMO

Do total de leite produzido no Brasil, 30% destina-se ao consumo na forma de leite cru ou através de lácteos elaborados a partir desse leite. Um estudo de corte transversal foi realizado para estimar a prevalência e, adicionalmente, avaliar fatores associados ao consumo de leite cru em uma população de alta vulnerabilidade social de Juiz de Fora, Minas Gerais. Foram construídos modelos explicativos de regressão linear univariados e multivariados. A taxa de consumo atual de leite cru encontrada foi de 11,4%. A mediana de consumo foi de 15 unidades de leite cru por indivíduo ao longo da vida. As variáveis idade, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação, local de moradia e histórico de consumo exagerado de álcool no último ano apresentaram-se associados ($p \leq 0,05$) ao consumo de leite cru. Os resultados reforçam a necessidade de medidas efetivas de controle ao comércio de leite cru e de programas de conscientização dos consumidores sobre os riscos de consumo de lácteos elaborados a partir de leite cru, assegurados pelas autoridades de saúde e agricultura.

Palavras-chave: leite, zoonoses, tuberculose, inspeção de alimentos, não-pasteurização.

ABSTRACT

Of the total milk produced in Brazil, 30% is intended for consumption in the form of raw milk or milk through prepared from such milk. A cross-sectional study was conducted to estimate the prevalence and additionally assess factors associated to unpasteurized milk consumption in a population of high social vulnerability of Juiz de Fora, Minas Gerais. Explanatory univariate and multivariate linear regression models were constructed. The current consumption rate of unpasteurized milk was 11.4%. The median of consumption was 15 units of unpasteurized milk per individual over the lifetime. Age, history of residence in rural areas, housing type, occupation, place of residence and history of alcohol abuse in the last year, were associated ($p \leq 0.05$) to unpasteurized milk consumption. The results reinforce the need for effective measures to control informal milk trade, highlighting the need of health and agriculture authorities assure educational programs focusing health hazards of drinking raw milk.

Keywords: milk, zoonoses, tuberculosis, food inspection, non-pasteurization.

RESUMEN

Del total de la leche producida en Brasil, un 30% se destina para el consumo en forma de leche cruda o leche a través de la leche. Un estudio transversal se llevó a cabo para estimar la prevalencia y, además, evaluar los factores asociados con el consumo de leche cruda en una población de alta vulnerabilidad social de Juiz de Fora, Minas Gerais. Modelos explicativos se construyeron regresión lineal univariante y multivariante. Se encontró que la tasa actual de consumo de leche cruda de 11,4%. El consumo promedio fue de 15 unidades de leche cruda por individuo durante toda la vida. Edad, antecedentes de residencia en las zonas rurales, el tipo de vivienda, ocupación, lugar de residencia y antecedentes de abuso de alcohol en el último año, se asoció ($p \leq 0.05$) para el consumo de la leche cruda. Los resultados refuerzan la necesidad de adoptar medidas eficaces para controlar el comercio de leche cruda y programas de sensibilización de los consumidores acerca de los riesgos de este consumo, garantizada por las autoridades de salud y agricultura.

Palabras clave: leche, zoonosis, tuberculosis, inspección de alimentos, no-pasteurización.

INTRODUÇÃO

Da produção total, somente 20.975.501 dos 30.715.460 litros de leite produzidos no Brasil em 2010 passaram por algum órgão de inspeção, o que sugere que 33% do leite produzido no Brasil são consumidos pelo mercado informal, sem qualquer fiscalização higiênico-sanitária. [1] Grande parte deste leite informal é destinada à fabricação de queijos artesanais elaborados a partir de leite recém-ordenhado, não pasteurizado e não fervido, ou seja, leite cru.

A porcentagem de consumo de leite e derivados informais torna-se maior no meio rural, em cidades de pequeno porte e periferias de médias e grandes cidades. Um estudo realizado em áreas periurbanas de Juiz de Fora MG revelou taxas de consumo de leite e queijo não inspecionados de 42,0% e 66,5% das residências, respectivamente. Apesar dessa pesquisa apresentada acima sobre consumo de leite e derivados informais, há poucos estudos que direcionam para a questão dos riscos deste tipo de alimento à saúde da população consumidora, o que demonstra a necessidade de mais estudos nesta área. [2] Agentes zoonóticos como *Mycobaterium bovis*, *Brucella abortus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, entre outros são transmitidos por meio da ingestão do leite e derivados crus.

A maioria dos casos de tuberculose zoonótica registrados nas áreas urbanas e rurais em pacientes que não trabalham com pecuária ou agroindústria de alimentos está associada ao consumo de leite e derivados crus.[3] Em um estudo, foram analisadas 52 amostras de leite de fêmeas bovinas leiteiras, que eram suspeitas ou positivas para tuberculose pelo teste de Stormont. Do total de animais estudados (n = 52) para a tuberculose, 19 (36,5%) eliminavam *M. bovis* pelo leite. [4] Em Juiz de Fora, entre 2008-2010, 189 pacientes humanos diagnosticados com tuberculose em dois centros de referência, destes, três (1,6%) apresentaram evidências de infecções por *M. bovis*, todos estes pacientes com histórico de exposições zoonóticas prévias.[5]

Em um estudo realizado em Pernambuco para diagnóstico da brucelose em humanos, foram encontradas 12 (21,4%) pessoas sororreagentes para pesquisa de *B. abortus* (soro aglutinação lenta) em 56 pessoas analisadas; 44 (78,6%) e 50 (89,3%) delas consumiam leite cru e derivados de leite crus, respectivamente. [6] O consumo de leite e derivados é real exposição por constituir uma via importante de transmissão de *Brucella* sp..[6,7] Em São Paulo foram analisadas 49 amostras de leite bovino obtidos de

vacas brucélicas e isolaram *B. abortus* de 15 (30,6%), mostrando que o leite e seus derivados são importantes veículos de transmissão desse patógeno.[8]

Em 1938, foi registrado o primeiro surto de campilobacteriose por consumo de leite cru em Illinois envolvendo 335 pacientes, sendo o patógeno isolado somente no sangue dos pacientes. [9] Até fevereiro de 2012, quatro estados dos Estados Unidos notificaram que 65 pessoas adoeceram após o consumo de leite cru, produzido em uma única fazenda na Pensilvânia e, após a realização de exames laboratoriais foi confirmado que a bactéria envolvida no surto era *Campylobacter jejuni*, esta foi encontrada em amostras de leite colhidas da fazenda. [10] Um estudo detectou Campylobacter spp. em 31 (34,1%) de 91 amostras de alimentos por PCR, sendo 18/43 (41,8%) de leite, 1/20 (5%) de queijo e 12/28 (42,8%) de água. [11]

Em Massachusetts, em 2007, foi relatado um surto por listeriose envolvendo cinco pessoas, com óbito de três idosos, associado ao consumo de leite pasteurizado adquirido de um laticínio local. [12] No Brasil, *Listeria monocytogenes* tem sido isolada de ambiente de laticínios processadores de leite fluido.[13] O mesmo patógeno tem sido isolado na linha de produção e ambiente de processamento de queijo minas frescal.[14] Surtos e casos esporádicos de listeriose causados por alimentos ainda não foram descritos no Brasil, embora a ocorrência de *L. monocytogenes* tenha sido relatada em vários tipos de alimentos.[15]

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) relatou que, em 2008, em dez estados americanos, foram confirmados 18.499 casos de infecções causadas por patógenos veiculados por alimentos, sendo que em 7.444 (40,24%) casos o agente etiológico foi *Salmonella*, com incidência de 16,2 casos por 100.000 habitantes. [16] Em um estudo realizado entre 2006 e 2007, no estado do Rio Grande do Sul, verificou-se, por análises microbiológicas de alimentos envolvidos em 186 surtos, que 37% deles foram causados por *Salmonella*, com 17 amostras contaminadas, atribuídas a produtos lácteos. [17]

No Brasil, com o objetivo de estabelecer padrões de qualidade e segurança para alimentos existe o Regulamento Industrial de Inspeção de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). O RIISPOA define que a pasteurização consiste no aquecimento do leite para eliminação de microrganismos patogênicos e redução dos microrganismos deteriorantes, permitindo, assim, maior segurança para os consumidores de leite e derivados. O principal fator para o sucesso da pasteurização é o binômio tempo-temperatura, em que padrões aprovados para o leite são 63-65 ºC por 30 minutos

(pasteurização lenta) ou 72-75 ºC por 20 segundos (pasteurização rápida). Para o leite UAT (Ultra Alta Temperatura), o binômio tempo-temperatura é de 130-150 ºC por 2 - 4 segundos e resfriado imediatamente a 32ºC e envase asseéptico. [18]

O presente estudo teve como objetivo estimar a prevalência atual ou passada de consumo de leite cru, bem como as quantidades de consumo ao longo da vida e os fatores associados às quantidades de consumo desse tipo de alimento, em populações de alta vulnerabilidade social, pacientes com tuberculose (TB), de Juiz de Fora, Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

População e período do estudo. A população do estudo foi recrutada a partir de dois centros de referência em tratamento da tuberculose de Juiz de Fora, Minas Gerais, cidade de aproximadamente 500 mil habitantes, com a maior parte deles (98%) residindo no meio urbano na atualidade. Os centros de referência incluídos foram: Hospital Reginal João Penido/Fundação Hospital do Estado de Minas Gerais e Unidade das Clínicas Especializadas do Sistema Único de Sáude. O período do estudo foi de março de 2008 a fevereiro de 2010.

Uma amostra de 189 individuos diagnosticados com tuberculose foi incluída no presente estudo, considerando-se uma população finita de 540 pacientes com TB residentes em Juiz de Fora e outras cidades vizinhas de menor porte ocorrendo no perído do estudo, uma proporção atual de consumo de leite cru de 13%, um erro relativo de 30,7% e um nível de significância de 0,05.

Dados éticos. Os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos eles, sendo o estudo aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (protocolo 819.125.2006) e Hospital Regional João Penido (protocolo 52/08).

Coleta de dados. Após a exposição dos objetivos do estudo, foi realizada uma entrevista, utilizando-se um questionário estruturado, para coletar informações sobre as variáveis comportamentais, padrões de consumo de produtos lácteos e tipos de trabalho. A forma de consumo do leite (fervido, pasteurizado ou cru) foi também determinada.

Delineamento do estudo. Trata-se de um estudo de corte transversal para estimar a prevalência de consumo de leite cru e as quantidades de consumo deste tipo de alimento ao longo da vida.

Variáveis do estudo. O estudo teve como variável resposta (evento) a quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida. A definição de leite cru utilizada no presente estudo refere-se ao leite fresco consumido não pasteurizado ou não fervido. A variável quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida foi definida a partir da frequência e o período de consumo deste tipo de alimento, construindo-se uma estimativa numérica (unidades de consumo), seguindo a fórmula:

UC = F x P

Onde:

UC = Unidade de consumo;

F = Frequência semanal;
P = Período de consumo (semanas).

As posssíveis variáveis explicativas do estudo foram sexo, idade, nível de escolaridade, renda individual, renda familiar, local de residência, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação, estado civil, estado conjugal, histórico do consumo de álcool no último ano e histórico do consumo de leite cru.

As variáveis utilizadas nesse estudo foram classificadas como categóricas e/ou numéricas de acordo com as análises realizadas.

Análises estatísticas. A partir das informações coletadas foi elaborado um banco de dados contendo todas as variáveis do estudo. O software Epi Info *versão 3.5.3* foi usado para gerenciamento e análise dos dados.[19]

Foram realizadas análises descritivas das variáveis qualitativas e quantitativas. Utilizou-se modelos de regressão linear univariados e multivariados para avaliar a relação entre as quantidades de consumo de leite cru e as possíveis variáveis explicativas. Tais modelos foram representados pela equação $\hat{y} = a + \beta x$, em que $\hat{y}$ representa a estimativa da quantidade de consumo de leite cru (variável resposta), a é o coeficiente linear da reta e β (beta da equação) é o coeficiente angular ou coeficiente de regressão linear. O nível de significância considerado foi de 0,05.

A análise multivariada buscou associação independente entre variáveis explicativas e o consumo de leite cru. As variáveis que foram associadas ao consumo de leite cru na análise univariada com nível de significância $p < 0,20$ e todas aquelas com relevância biológica ou epidemiológica foram consideradas para análise de regressão logística multivariada usando o método "backward".

Utilizaram-se modelos univariados de regressão logística para avaliar a ocorrência de colinearidade e de possíveis fatores de confusão. Nestes casos, a magnitude das associações foi estimada por "*Odds Ratio"* (OR). O intervalo de confiança foi de 95% e o nível de significância considerado de 0,05.

Finalmente construiram-se modelos não-saturados de regressão linear para avaliar a ocorrência de possíveis fatores de confusão. O nível de significância considerado foi de 0,05.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta as características descritivas das variáveis qualitativas. A população total do estudo foi de 189 entrevistados. Destes, 139 (73,5%) eram do sexo masculino. Entre os entrevistados, 6 (3,2%) moravam no meio rural, 54 (28,6%) eram ex-moradores e 73 (38,6%) nunca moraram no meio rural. Do total de entrevistados, 59 (31,2%) trabalhavam e 73 (38,6%) não trabalhavam com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal. Dos 189, 15 (8%) eram consumidores atuais, 71 (37,6%) ex-consumidores e 46 (24,3%) nunca consumiram leite cru.

A Tabela 2 apresenta as características descritivas das variáveis quantitativas. A idade mínima e mediana dos participantes foi 17 anos e 39 anos, respectivamente. A variável renda familiar apresentou valor mediano de 1,9 sálarios mínimos. A quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida apresentou um valor mediano de 15 unidades.

A Tabela 3 apresenta resultados da análise univariada de regressão linear para o consumo de leite cru ao longo da vida. As variáveis sexo, idade, local de residência, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação relacionada à pecuária e à agroindústria de alimentos de origem animal, histórico de consumo exagerado de álcool no último ano, histórico do consumo atual de leite cru (comparando com ex-consumidores) apresentaram associação ($p \leq 0,05$) com a quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida.

As tabelas 4 e 5 apresentam análises multivariadas de regressão linear para a quantidade de consumo do leite cru ao longo da vida. As variáveis ocupação, idade, tipo de moradia e histórico do consumo exagerado de álcool no último ano apresentaram associação ($p \leq 0,05$) com o consumo de leite cru em ambos os modelos. Os entrevistados que não trabalhavam com atividades relacionadas à pecuária e agroindústria de alimentos de origem animal apresentaram, em média, 1.472 (modelo 1) e 1.917 (modelo 2) unidades a menos de consumo de leite cru , em relação aos que tiveram esse tipo de ocupação. Pessoas com consumo exagerado de álcool apresentaram em média 1.387 (modelo 1) e 1.393 (modelo 2) unidades de consumo a menos de leite cru. Os entrevistados que moravam em casa/apartamento apresentaram a média de 1.810 (modelo 1) e 1.638 (modelo 2) unidades de consumo a menos de leite cru que os que residiam em outros tipos de moradia.

As variáveis histórico de residência no meio rural e local de residência (Juiz de Fora ou outros municípios) não permaneceram nos mesmos modelos por estarem

mutuamente associadas ($p \leq 0,05$), evidência de colinearidade. Pessoas que moram no meio rural em relação a pessoas que nunca moraram tiveram 23,3 vezes mais chance ($p = 0,001$) de morarem em outros municípios menores em relação a Juiz de Fora. As que já moraram no meio rural em relação as que nunca moraram tiveram 3,4 vezes mais chance ($p = 0,08$) de morarem em outros municípios menores em relação a Juiz de Fora.

Em cada modelo, separadamente, as referidas variáveis (histórico de residência no meio rural e local de residência) apresentaram associação ($p \leq 0,05$) com a quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida. Pessoas que nunca moraram no meio rural tiveram 4.073 unidades a menos de consumo de leite cru ao longo da vida em relação a pessoas com historico de residência no meio rural (modelo 1). Pessoas que moram em outros municípios tiveram 3.280 unidades a mais de consumo de leite cru em relação a pessoas que tiveram como local de residência a cidade de Juiz de Fora (modelo 2).

A variável sexo não permaneceu nos modelos multivariados finais. Assim, resultados de análises logísticas desta variável com outros possíveis fatores de confusão foram avaliadas. Sexo mostrou associação com ocupação. Pessoas que trabalhavam com atividades relacionadas à pecuária ou áreas afins em relação a pessoas que nunca trabalharam tiveram 3,0 vezes mais chances ($p = 0,01$) de serem do sexo masculino. Houve associação de sexo também com a variável histórico do consumo de álcool. Pessoas que beberam de forma exagerada em relação a pessoas que nunca beberam ou não beberam no último ano tiveram 4,8 vezes mais chances ($p < 0,01$) de serem do sexo masculino.

Um modelo de regressão linear múltipla não saturado incluindo as variáveis explicativas ocupação, histórico do consumo de álcool e sexo, tendo como variável resposta (evento) o consumo de leite cru ao longo da vida foi explorado. Neste modelo, as variáveis explicativas ocupação e histórico do consumo de álcool mantiveram-se associadas com o evento ($p \leq 0,05$) e a variável sexo não apresentou associação significativa.

DISCUSSÃO

Este estudo produziu estimativas da freqüência de consumo, bem como das quantidades de leite cru ao longo da vida em uma população de pacientes com TB, que supostamente enfrenta alta vulnerabilidade social.

Adicionalmente, modelos explicativos univariados e multivariados para a quantidade de consumo de leite cru ao longo da vida foram avaliados.

A taxa de consumo atual (11,4%) de leite cru do presente estudo foi menor que a de outro estudo (42,0%) realizado em bairros da periferia de Juiz de Fora. [2] Entretanto, foi encontrada no presente estudo, taxa expressiva de ex-consumidores de leite cru (53,8%).

O consumo de leite e derivados não inspecionados no Brasil representa 30,0% do total produzido no país, tornando-se este tipo de alimento potencial veiculador de patógenos aos seres humanos.[20]

Estudo realizado em Pernambuco, encontrou que 26,5% dos domicílios consumiam o leite não pasteurizado, o que poderia implicar em riscos à saúde pública.[21] De acordo com dados da associação de produtores Leite Brasil, o consumo de leite cru é alto no Piauí (89,0%) e no Maranhão (83,7%), enquanto que no Rio Grande do Sul apresenta a menor taxa de consumo do Brasil, com 18,0%.[22]

As variáveis idade, local de residência, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação e histórico do consumo de álcool no último ano mantiveram-se nos modelos multivariados do presente estudo. Possíveis explicações foram construídas para essas variáveis associadas ao consumo de leite cru e são apresentadas a seguir.

Ocupação relacionada à pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal mostrou-se associada à maiores quantidades de consumo de leite cru no presente estudo. Pessoas que trabalham com este tipo de ocupação podem ter mais contato com leite cru, fato este que possibilitaria o maior consumo deste produto inclusive nas refeições realizadas no trabalho. Um trabalho realizado em Dumont, São Paulo, relata que a ocupação (profissão) está relacionada com as condições sócio-econômicas da população, interferindo, assim, no estado sanitário e na condição geral de saúde de grupos populacionais. [23]

Pessoas que consumiam bebida alcoólica de forma exagerada estiveram associadas a maiores médias de consumo de leite cru no presente estudo. Uma possível

explicação para esse fato é que pessoas com tendência ao alcoolismo representaram uma parcela da população de alta vulnerabilidade que ainda não compreendeu verdadeiramente os riscos que estão associados ao consumo de alimentos informais.

No presente estudo, as variáveis histórico de residência no meio rural e local de residência (Juiz de Fora/outros municípios) não puderam permanecer nos mesmos modelos provavelmente devido a um efeito de colinearidade, mas ambas foram significativas para explicar as quantidades de consumo de leite cru em modelos multivariados separados. Pessoas que moram no meio rural geralmente possuem criações no quintal de casa ou trabalham com pecuária de leite ou agroindústria de produtos de origem animal. Isto possivelmente explica as maiores taxas de consumo de leite cru por estas populações verificadas no presente estudo.

Em Jacareí, São Paulo verificou-se que morar na zona rural apresentou associação com o consumo de leite fuido informal. Este fato deve-se à proximidade entre o produto e o consumidor. Outro fator é a maior dificuldade na aquisição e transporte de leite pasteurizado para regiões rurais, que muitas vezes precisa ser refrigerado além de ter que ser comprado frequentemente.[24] Em Colatina, Espírito Santo, foi relatado também que o consumo de lácteos não pasteurizados foi maior em pessoas residentes na zona rural do município.[25] Em Campo Mourão, Paraná, foi encontrado que em bairros da periferia o consumo de leite não pasteurizado foi alto (53,8%). [26]

Adicionalmente, verificou-se no presente estudo que pessoas que moravam em outros municípios (em geral menores que Juiz de Fora) consumiam mais leite cru. Uma possível explicação para o fato está na facilidade na aquisição desse leite cru, onde este é vendido muitas vezes de porta em porta. Outra possível explicação é que outros municípios, pelo fato de serem menores, têm maior ligação com o meio rural, onde este produto tem uma disponibilidade mais fácil.

Nesse estudo, as pessoas que moravam em barracos, quartos, presídios, albergues ou hospitais psiquiátricos apresentaram-se associadas a maiores quantidades de consumo de leite cru. Possíveis explicações para o fato são levantadas. Pessoas que moram nesses tipos de acomodações podem estar mais sujeitas a exposição a este tipo de produto, recebendo este tipo de alimento como doações, ou pelo fato do valor do produto ser mais barato que o industrializado ou mesmo facilidade em comprar o produto.

Nos parágrafos seguintes, serão discutidas algumas variáveis que apresentaram-se associadas ao consumo de leite cru na análise univariada. No presente estudo, o histórico de consumo atual de leite cru (comparado com consumo passado ou nunca ter consumido) mostrou-se associado ($p \leq 0,05$) com maiores quantidades de consumo. Uma possível explicação seria o fato de consumidores atuais terem maior tempo de consumo, permanecendo até os dias de hoje com este mesmo hábito.

Também a variável sexo apresentou-se associada ($p \leq 0,05$) com o consumo de leite cru no nesse estudo, estando o sexo masculino relacionado a maiores quantidades de consumo de leite cru. Em Jacareí, São Paulo, também observou-se uma associação estatística significativa entre o sexo masculino e o consumo de leite não pasteurizado.[24] Entretanto, em um estudo realizado em Sobral, Ceará, encontrou-se que das 300 pessoas entrevistadas sobre o consumo de leite não pasteurizado, 222 (74%) eram mulheres. [27]

Verificou-se, entretanto, no presente estudo que a variável sexo não permaneceu com associação significativa com o consumo de leite cru nos modelos explicativos multivariados, possivelmente devido a um efeito de confusão. Houve evidências que as variáveis ocupação e histórico do consumo de álcool comportam-se como fatores de confusão para a relação encontrada, na análise univariada, do sexo com o consumo de leite cru.

O presente estudo não encontrou associação estatística entre o nível de escolaridade e o consumo do tipo de alimento em questão, possívelmente pelo fato da população do estudo ser homogênea e com baixo nível de escolaridade. Outros estudos realizados em Campo Mourão, Paraná e em Jacareí, São Paulo, não encontraram associação entre o nível de escolaridade dos entrevistados e o consumo de leite não pasteurizado.[26,24] Em Colatina, Espírito Santo, também foi relatado uma proximidade das taxas de consumo de leite e derivados informais entre indivíduos com nível superior e indivíduos com ensino fundamental ou médio, ressaltando que as informações transmitidas nos anos escolares inicias, sobre perigos de doenças transmitidas por alimentos, não estão sendo suficientes para escolha ou não de um produto seguro ao consumo.[25] Em Sobral, Ceará, um estudo encontrou que relativo ao nível de escolaridade, a maioria dos entrevistados tinha o segundo grau completo (37%) o que mostra que o nível educacional naquele estudo não estava fortemente associado ao consumo de leite não pasteurizado.[27] Entretanto, um estudo realizado em Lavras, Minas Gerais, encontrou que pessoas que possuem até o ensino médio fundamental têm 3

vezes mais chances de consumo de leite não pasteurizado em relação a pessoas com maior grau de escolaridade.[28]

No presente estudo, as variáveis renda individual e renda familiar também não apresentaram associação estatística ($p > 0,05$) com o consumo de leite cru, fato que pode ser atribuído a baixa e homogênea renda da população do estudo. Em Jacareí , São Paulo, um estudo também não encontrou associação entre renda individual e consumo de leite e lácteos formais ou informais. [24]

Em Lavras, Minas Gerais, foi relatado que onde pessoas acham que o leite cru tem melhor preço, há 11 vezes mais chances de consumi-lo.[28] Por outro lado em Campo Mourão, Paraná, relatou-se que os entrevistados que consumiam leite não pasteurizado tinham como justificativa que pagavam diretamente ao produtor apenas uma vez ao mês e recebiam o produto regularmente na residência, fato este que está diretamente associado tanto à renda familiar como à comodidade.[26]

O consumo de leite e derivados não pasteurizados causa inúmeros prejuízos à saúde da população, porém esses dados não são, na maioria das vezes, divulgados. O problema é que estes produtos podem oferecer riscos à saúde humana, uma vez que muitos patógenos são veiculados pelo leite (*Mycobacteirum bovis*, *Brucella* spp., *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, entre outros microrganismos com potencial risco à saúde humana).

O conhecimento sobre os principais patógenos existentes no leite cru, bem como a melhoria na qualidade do processo, desde as etapas iniciais de produção, é de extrema importância para a saúde pública, uma vez que a partir desses dados é possível a criação de políticas de controle de doenças causadas por esses agentes. O mais preocupante é que o alimento contaminado com patógenos para humanos, geralmente, não apresenta nenhuma alteração visível (de cheiro, gosto ou aparência), sendo as pessoas, em geral, afetadas sem perceberem.

A criação de políticas e programas de conscientização quanto ao consumo de leite e derivados não pasteurizados é uma ferramenta primordial para o controle das doenças transmitidas por alimentos (DTA'S) e combate ao comércio ilegal destes produtos tanto em municípios de pequeno porte quanto em grandes centros. Aliadas a essas práticas, a implementação das boas práticas agropecuárias (BPA), em conjunto com um rigoroso controle sanitário dos rebanhos leiteiros podem influenciar diretamente na qualidade do leite produzido, de modo a garantir a inocuidade desse alimento.

Conclui-se com este estudo que idade, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação, local de moradia e histórico do consumo exagerado de álcool no último ano apresentaram-se associados ao consumo de leite cru. Adicionalmente, foi verificada uma taxa significativa de consumo informal. Considerando-se o negligenciamento de qualquer tipo de inspeção sanitária e/ou desconhecimento do nível de controle higiênico-sanitário dos animais que estão envolvidos com a produção do tipo de leite referido no presente estudo, assim como de seus processos de obtenção, transporte e comercialização, os achados aqui relatados constituem um motivo de preocupação, principalmente em função do risco representado pelo consumo deste produto sem que tenha sido previamente submetido à fervura.

Deve ser ainda ressaltado que entre os 189 pacientes com tuberculose do presente estudo foram encontradas três evidências de tuberculose causada por *M. bovis*, sendo que tais pacientes faziam parte de um grupo de risco, estando todos expostos ao agente zoonótico em questão, sendo dois deles consumidores de queijos não pasteurizados e um envolvido com ocupações relacionadas à pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal. [5]

Os resultados de informalidade de consumo de leite verificados no presente estudo e as variáveis a ela associadas, bem como os casos de tuberculose zoonótica verificados na mesma população do estudo [5] deveriam servir de alerta tanto para as autoridades de saúde como da agricultura.

COLABORADORES

Os quatro autores contribuíram para o desenvolvimento desse estudo. O planejamento, as atividades de campo e a formação do banco de dados foram realizados por SILVA, MR. As análises dos dados e a primeira versão deste artigo foram feitos por ROCHA, BB. As correções foram feitas por SILVA, MR; NUNES, GN e MOREIRA, MAS. Finalmente todos os autores revisaram o artigo antes da submissão.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Gado de Leite pelo apoio na execução do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado concedida a ROCHA, BB e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (suporte financeiro CNPq - 410595/2006-3/MCT/CNPq/MS-SCTIEDECIT 25/2006) pelos recursos destinados ao projeto. Finalmente, ao CNPq pela bolsa de produtividade concedida à MOREIRA, MAS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zoccal R. Leite inspecionado no Brasil 2000/2011. Embrapa Gado de Leite. Fevereiro 2012. http://www.cnpgl.embrapa.br/ (acessado em 15/Agosto/20013).

2. Silva MR, Oliveira ME, Oliveira LD, Rodrigues VB, Fernandes RF. Segurança alimentar: percepção e atitudes de consumidores de áreas peri urbanas de Juiz de Fora - MG. Rev Hig Alimentar 2005; 19 (130): 1-2.

3. Guimarães FF, Langoni H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. Vet Zootec 2009; 16: 38-51.

4. Pardo RB, Langoni H, Mendonça LJP, Chi KD. Isolation of *Mycobactrium spp*. in milk from cows suspected or positive to tuberculosis. Braz J Vet Res Anim Sci 2001; 38 (6): 284-7.

5. Silva MR, Rocha AS, Costa RR, Alencar AP, Oliveira VM, Júnior AAF, et al. Tuberculosis in patients co-infected wint *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* in an urban area of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2013; 106: 321-7.

6. Tenório TGS, Melo LEH, Mota RA, Fernandes CHC, Sá LM, Souto RJC, et al. Pesquisa de fatores de risco para a brucelose humana associados à presença de brucelose bovina no município de Correntes, estado de Pernambuco, Brasil. Arq Inst Biol 2008; 75 (4): 415-21.

7. Metin A, Akdeniz H, Buzgan T, Delice I. Cutaneous findings encountered in brucellosis and review of the literature. Int J Dermatol 2001; 40 (7): 434-38.

8. Langoni H, Ichihara SM, Silva AV, Pardo RB, Tonin FB, Mendonça LJP, et al. Isolation of *Brucella spp* from milk of brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais states. Braz J Vet Res Anim Sci 2000; 37 (6): 444-48.

9. Butzler JP. *Campylobacter*, from obscutity to celebrity. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (10): 868-76.

10. Cieves. Centro de Informações e Respostas Estratégicas de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância e Controle de Agravos Estratégicos. Superintendência de Vigilância em Saúde. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. 2012. http://www.sesa.pr.gov.br/arquivos/File/.../2012/informeSE07errata.pdf (acessado em 23/Maio/2013).

11. Kobayashi PF. Monitoramento dos principais agentes zoonóticos em leite e seus derivados de origem clandestina, provenientes de animais criados às margens do rio Tietê. **[**Dissertação]. São Paulo: Instituto Biológico; 2012.

12. Centers for Diseases Control and Prevention. Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy, Massachusetts, 2007. Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57 (40): 1097-100.

13. Figueiredo EAT. Ocorrência do gênero Listeria e avaliação da diversidade genética de *Listeria monocytogenes* através do random amplified polymorphic DNA (RAPD) e sua distribuição em linha de processamento de leite pasteurizado tipo "C". [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2000.

14. Barancelli GV, Camargo TM, Arruda NF, Barbosa AV, Porto E, Oliveira CAF, et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em linha de produção e ambiente de processamento de queijo Minas frescal. In: Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia; 2009 Nov 8-12; Porto de Galinhas, Brasil. Ipojuca: SBM; 2009.

15. Borges MF, Andrade APC, Arcuri EF, Kabuki DY, Kuaye AY. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos. Documento 119. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Ceará. 2009. www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_119.pdf *(*acessado em 15/Maio/2013).

16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with multiple raw produce items, United States, 2008. Morb Mortal Wkly Rep 2009; 57 (34): 929-34.

17. Welker CAD, Both JMC, Longaray SM, Haas S, Soeiro MLT, Ramos RC. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. R Bras Bioci 2010; 8 (1): 44-8.

18. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. Regulamento Industrial de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Brasil, 2008. http://www.agricultura.gov.br (acessado em 15/Maio/2013).

19. Dean AG, Arner TG, Sunki GG, Friedman R, Lantinga M, Sangam S, et al. Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.20.

20. Rubez J. Consumo de leite cru traz riscos para a saúde. Feed & Food 2012. http://www.feedfood.com.br/consumo-de-leite-cru-traz-riscos-para-a-saude (acessado em 23/Maio/2013).

21. Liro CV, Granja REP, Zocche F. Perfil do consumidor de leite no vale do rio São Francisco, Pernambuco. Ciênc Anim Bras 2011;14 (4): 718-26.

22. Neuwald A. Consumo de leite cru é menor no Rio Grande do Sul. Gazeta do Sul 2013.
http://www.gaz.com.br/gazetadosul/noticia/386769consumo_de_leite_cru_e_menor_no_rs/edicao:2013-01-09.html (acessado em 23/Maio/2013).
23. Souza AP, Filho DCM, Fávero M. Investigação da brucelose em bovinos e em consumidores humanos do leite. Rev Saúde Públ 1977; 11: 238-47.
24. Sousa DDP. Consumo de produtos lácteos informais em Jacareí- SP. [Dissertação].São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
25. Miller NB. Perfil do consumo de leite e derivados lácteos no município de Colatina - Espírito Santo. [Especialização *latu sensu*]. Universidade Castelo Branco; 2008.
26. Nero LA, Maziero D, Bezerra MMS. Hábitos alimentares do consumidor de leite cru de Campo Mourão-Paraná. Agrárias 2003; 24 (1): 21-6.
27. Aguiar RAC, Andrade PL, Xerez Neto TA, Portela LP, Silva EDL, Guimarães VP. Consumo de leite cru na cidade de Sobral-Ceará. In: VII Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação; 2012 Out 19-21; Palmas, TO. Palmas: IFTO; 2012.
28. Barbieri JM, Lucci JR, Daher DO, Bruhn FRP, Lopes E, Janoele FC, et al. Fatores de risco associados ao consumo do leite *in natura* nos consumidores de Lavras, MG 2012. Acta Sci Vet 2012; 40 (Supl 2): s-75.

TABELAS

Tabela 1. Características descritivas da população do estudo (n=189), Juiz de Fora, 2008-2010 (variáveis qualitativas)

Característica	*n (%)*
Sexo	
Masculino	139 (73,5)
Feminino	50 (26,5)
Cor da pele	
Branco	48 (25,4)
Negro ou pardo	67(34,4)
Ignorado	74 (40,2)
Nível de Escolaridade	
Nenhuma até a 4ª série ensino fundamental	61 (32,3)
5ª a 8ª série ensino fundamental	53 (28,0)
Ensino médio incompleto até superior complete	31 (16,0)
Ignorado	44 (23,7)
Local de residência	
Juiz de Fora	161 (85,2)
Outros municípios	28 (14,8)
Histórico de residência no meio rural	
Moradores atuais	6 (3,2)
Ex-moradores	54 (28,6)
Nunca moraram	73 (38,6)
Ignorado	56 (29,6)
Tipo de moradia	
Barraco/Quarto/Presídio/Albergue/Hospital Psiquiátrico	22 (11,6)
Casa/Apartamento	118 (62,4)
Ignorado	49 (26,0)
Ocupação	
Trabalham com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	59 (31,2)
Não trabalham com as atividades acima	73 (38,6)
Ignorado	57 (30,2)
Estado civil	
Solteiro	82 (43,4)
Desquitado/Divorciado	12 (6,3)
Casado/Viúvo	5 (2,6)
Ignorado	90 (47,7)
Estado conjugal	
Nunca morou com parceiro sexual	24 (12,8)
Já morou com parceiro sexual	53 (28,0)

Mora com parceiro sexual	56 (29,6)
Ignorado	56 (29,6)
Histórico do consumo de álcool no último ano	
Beberam de forma exagerada	54 (28,6)
Beberam de forma moderada	33 (17,5)
Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	48 (25,4)
Ignorado	54 (28,5)
Histórico do consumo de álcool em binge no último ano	
Binge de uma a mais vezes por semana	38 (20,1)
Binge de uma vez ao mês a uma vez ao ano	28 (15,0)
Nunca bebeu binge no último ano	42 (22,2)
Nunca bebeu ou nunca bebeu em binge	21 (11,1)
Ignorado	60 (31,6)
Diagnóstico sorológico para HIV	
Positivo	24 (12,7)
Negativo	86 (45,5)
Ignorados	79 (41,8)
Histórico do consumo de leite cru	
Consumidores atuais	15(8,0)
Ex-consumidores	71(37,6)
Nunca consumiram	46(24,3)
Ignorado	57 (30,1)

Tabela 2. Características descritivas da população do estudo (n=189), Juiz de Fora, 2008-2010 (Variáveis quantitativas)

Característica	*Valor mínimo*	*25%*	*Mediana*	*75%*	*Valor Máximo*	*Moda*
Idade	17,0	30,0	39,0	50,0	83,0	25,0
Renda Individual	0,0	0,3	1,0	1,3	12,9	0,0
Renda Familiar	0,0	1,0	1,9	2,8	24,0	1,0
Histórico do consumo de leite cru	0,0	0,0	15,0	1248,0	20832,0	0,0

Tabela 3. Análise univariada para o consumo de leite cru ao longo da vida

Variável	*Coeficiente*	*Valor de p*
Sexo		
Masculino/Feminino	1646,9	0,02

Idade	73,2	<0,01
Nível de Escolaridade		
5ª a 8ª série ensino fundamental/nenhuma até 4ª série ensino fundamental	-224,5	0,76
Médio incompleto até superior completo/nenhuma até 4ª série ensino fundamental	-1402,2	0,10
Renda Individual	0,0	0,61
Renda Familiar	0,0	0,28
Local de residência		
Morar em outro município/Mora em Juiz de Fora	4836,0	<0,0001
Histórico de residência no meio rural		
Já morou/mora	-2909,7	0,09
Nunca morou/mora	-5550,6	< 0,01
Tipo de moradia		
Casa ou apartamento/Barraco ou quarto ou presídio ou albergue ou hospital psiquiátrico	-2788,5	<0,01
Ocupação		
Quem não trabalha /Trabalha com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	-2663,5	< 0,0001
Estado civil		
Desquitado ou divorciado/Solteiro	1559,5	0,19
Casado ou viúvo/Solteiro	1027,9	0,53
Estado conjugal		
Já morou com parceiro sexual/Nunca morou com parceiro sexual	1346,1	0,14
Mora com o parceiro sexual/Nunca morou com o parceiro sexual	714,3	0,43
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Bebeu de forma moderada/Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1880,1	0,02
Bebeu de forma exagerada/ Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1314,4	0,08
Histórico do consumo de leite cru		
Ex-consumidores/Consumidores atuais	-1539,2	0,11
Nunca consumiram/Consumidores atuais	-4022,0	0,0001

Tabela 4. Análise multivariada para o consumo de leite cru ao longo da vida (modelo 1)

Variável	*Coeficiente*	*Valor de p*
Idade	53,1	0,01
Histórico de residência no meio rural		
Já moraram (moram)	-2869,4	0,14
Nunca moraram (moram)	-4073,0	< 0,05
Tipo de Moradia		
Casa ou apartamento (Barraco, quarto, presídio, albergue, hospital psiquiátrico)	-1810,0	< 0,05
Ocupação relacionada à pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal		
Não trabalha (Trabalha)	-1472,8	< 0,05
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Beberam de forma moderada (nunca bebeu ou não bebeu no último ano)	-1251,9	0,10
Beberam de forma exagerada (nunca bebeu ou não bebeu no último ano)	-1387,9	0,05

Tabela 5. Análise multivariada para o consumo de leite cru (modelo 2)

Variável	*Coeficiente*	*Valor de p*
Idade	50,3	0,01
Local de residência		
Outros municípios (Juiz de Fora)	3280,3	< 0,01
Tipo de moradia		
Casa ou apartamento (Barraco, quarto, presídio, albergue, hospital psiquiátrico)	-1638,9	0,05
Ocupação relacionada com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal		
Não trabalha (Trabalha)	-1917,4	< 0,01
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Beberam de forma moderada (nunca bebeu ou não bebeu no último ano)	-1251,4	0,09
Beberam de forma exagerada (nunca bebeu ou não bebeu no último ano)	-1393,0	< 0,05

Tabela 6. Modelo de regressão logística univariado relacionando histórico de residência no meio rural com o local de residência

Variável	*Razão de chance*	*Coeficiente*	*Valor de p*
Histórico de residência no meio rural			
Já moraram/Nunca moraram	3,4	1,24	0,08
Moram/Nunca moraram	23,3	3,14	< 0,01

Tabela 7. Modelo de regressão linerar não saturado para relação de ocupação, histórico do consumo de álcool e sexo com consumo de leite ao longo da vida

Variável	*Constante*	*Valor de p*
Ocupação		
Quem não trabalha/Quem trabalha com açougue, pecuária ou áreas afins	-2312,9	< 0,01
Sexo		
Masculino/Feminino	757,7	0,32
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Bebeu de forma moderada/Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1653,2	0,04
Bebeu de forma exagerada/ Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1060,1	0,17

CAPÍTULO III

Prevalência e fatores associados ao consumo de queijo não pasteurizado em uma população de alta vulnerabilidade social no Brasil

Prevalence and associated factors to unpasteurized cheese consumption in a population of high social vulnerability in Brazil

Prevalencia y factores asociados el consumo de queso sin pasteurizar en una población de alta vulnerabilidad social de Brasil

Artigo a ser submetido ao "**Caderno de Saúde Pública"**

ROCHA, B.B.; SILVA, M.R.; SOUZA, G.N.; MOREIRA, M.A.S.

RESUMO

Do total de leite produzido no Brasil, 30% destina-se ao consumo na forma de leite cru ou através de lácteos elaborados a partir desse leite. Um estudo de corte transversal foi realizado para estimar a prevalência e, adicionalmente, avaliar fatores associados ao consumo de queijo feito com leite cru em uma população de alta vulnerabilidade social de Juiz de Fora, Minas Gerais. Foram construídos modelos explicativos de regressão linear univariados e multivariados. A taxa de consumo atual de queijo feito com leite cru encontrada foi de 43,9 %. A mediana de consumo foi de 279 unidades de quejo feito com leite cru por indivíduo ao longo da vida. As variáveis local de residência, ocupação e histórico do consumo exagerado de álcool apresentaram-se associados ($p \leq 0,05$) ao consumo de queijo feito com leite cru. Os resultados reforçam a necessidade de medidas efetivas de controle ao comércio de queijo feito com leite cru e de programas de conscientização dos consumidores sobre os riscos de consumo de lácteos elaborados a partir de leite cru, assegurados pelas autoridades de saúde e agricultura.

Palavras-chave: queijo, zoonoses, tuberculose, inspeção de alimentos, não-pasteurização.

ABSTRACT

Of the total milk produced in Brazil, 30% is intended for consumption in the form of raw milk or milk through prepared from such milk. A cross-sectional study was conducted to estimate the prevalence and additionally assess factors associated to unpasteurized cheese consumption in a population of high social vulnerability of Juiz de Fora, Minas Gerais. Explanatory univariate and multivariate linear regression models were constructed. The current consumption rate of unpasteurized cheese was 43.9%. The median of consumption was 279 units of unpasteurized cheese per individual over the lifetime. place of residence, occupation and history of alcohol abuse in the last year, were associated ($p \leq 0.05$) to unpasteurized milk consumption. The results reinforce the need for effective measures to control informal cheese trade, highlighting the need of health and agriculture authorities assure educational programs focusing health hazards of drinking raw milk.

Keywords: cheese, zoonoses, tuberculosis, food inspection, non-pasteurization.

RESUMEN

Del total de la leche producida en Brasil, un 30% se destina para el consumo en forma de leche cruda o leche a través de la leche. Un estudio transversal se llevó a cabo para estimar la prevalencia y, además, evaluar los factores asociados con el consumo de leche cruda en una población de alta vulnerabilidad social de Juiz de Fora, Minas Gerais. Modelos explicativos se construyeron regresión lineal univariante y multivariante. Se encontró que la tasa actual de consumo de leche cruda de 43,9%. El consumo promedio fue de 279 unidades de leche cruda por individuo durante toda la vida. El lugar de residencia, ocupación y antecedentes de abuso de alcohol en el último año se asoció ($p \leq 0.05$) para el consumo de queso elaborado con leche cruda. Los resultados refuerzan la necesidad de tomar medidas eficaces para controlar el comercio de queso y los programas de sensibilización de los consumidores sobre los riesgos de consumir productos lácteos elaborados con leche cruda, que deben ser alertado a las autoridades de salud y agricultura.

Palabras clave: queso, zoonosis, tuberculosis, inspección de alimentos, no-pasteurización.

INTRODUÇÃO

Da produção total, somente 20.975.501 dos 30.715.460 litros de leite produzidos no Brasil em 2010 passaram por algum órgão de inspeção, o que sugere que 33% do leite produzido no Brasil são consumidos pelo mercado informal, sem qualquer fiscalização higiênico-sanitária. [1] Grande parte deste leite informal é destinada à fabricação de queijos artesanais elaborados a partir de leite recém-ordenhado, não pasteurizado e não fervido, ou seja, leite cru.

O consumo de leite e derivados informais torna-se maior no meio rural, em cidades de pequeno porte e periferias de médias e grandes cidades. Um estudo realizado em áreas periurbanas de Juiz de Fora MG revelou taxas de consumo de leite e queijo não inspecionados de 42,0% e 66,5% das residências, respectivamente. Apesar da existência da pesquisa acima sobre consumo de leite e derivados informais, são poucos os estudos que direcionam para a questão dos riscos deste tipo de alimento à saúde da população consumidora, o que demonstra a necessidade de mais estudos nesta área. [2]

O Queijo Minas Artesanal tornou-se patrimônio imaterial da humanidade. Para o Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN), o queijo, este produto de origem milenar que os exploradores do ouro trouxeram para Minas, é hoje uma das maiores expressões da chamada "mineiridade". Seja como alimento ou como manifestação cultural, está presente no cotidiano e no imaginário de todos os mineiros. Esse saber, do modo de produção queijeira, passado de pai para filho, de geração em geração, garantiu ao longo dos séculos a sustentabilidade das famílias, assim como representa também ajuda imprescindível à economia familiar. [3]

Contudo, este modo milenar de fazer queijo artesanal com leite cru preocupa as autoridades de saúde pública (médicos, médicos veterinários e demais profissionais da área). Muitos microrganismos veiculados pelo leite não pasteurizado ou fervido podem oferecer riscos à saúde humana.

Apesar das pesquisas apresentadas sobre consumo de leite e derivados informais, há poucos estudos que direcionam para a questão dos riscos relacionados à saúde da população consumidora, o que demonstra a importância de mais estudos nesta área. [4]

Agentes zoonóticos como *Mycobaterium bovis*, *Brucella abortus*, *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, entre outros são transmitidos por meio da ingestão do leite e derivados crus.

Em um estudo, foram analisadas 52 amostras de leite de fêmeas bovinas leiteiras, que eram suspeitas ou positivas para tuberculose pelo teste de Stormont. Do total de animais estudados (n = 52) para a tuberculose, 19 (36,5%) eliminavam *M. bovis* pelo leite, o que demonstra que o agente zoonótico pode ser eliminado em altas taxas entre animais com tuberculose. [5] Em Juiz de Fora entre 2008-2010, 189 pacientes humanos diagnosticados com tuberculose em dois centros de referência, destes, três (1,6%) apresentaram evidências de infecções por *M. bovis*, todos estes pacientes com histórico de exposições zoonóticas prévias.[6]

Em um estudo realizado em Pernambuco para diagnóstico da brucelose em humanos foi encontrada uma freqüência de 12 (21,4%) pessoas sororreagentes para pesquisa de *B. abortus* (soro aglutinação lenta) em 56 pessoas analisadas; 44 (78,6%) e 50 (89,3%) delas consumiam leite cru e derivados de leite cru, respectivamente. [7] Leite e derivados consumidos crus é real exposições por constituir uma via importante de transmissão de *Brucella* sp..[7,8] Em São Paulo foram analisadas 49 amostras de leite bovino obtidos de vacas brucélicas e isolaram *B. abortus* de 15 (30,6%), mostrando que o leite e seus derivados são importantes veículos de transmissão desse patógeno pela via digestiva.[9]

Em 1938 foi registrado o primeiro surto de campilobacteriose por consumo de leite cru em Illinois envolvendo 335 pacientes, sendo o patógeno isolado somente no sangue dos pacientes.[10] Até fevereiro de 2012, quatro estados dos Estados Unidos notificaram que 65 pessoas adoeceram após o consumo de leite cru, produzido em uma única fazenda na Pensilvânia, e, após a realização de exames laboratoriais foi confirmado que a bactéria envolvida no surto era *Campylobacter jejuni*, que foi encontrada em amostras de leite colhidas da fazenda. [11] Um estudo detectou *Campylobacter spp*. em 31 (34,1%) de 91 amostras de alimentos por PCR, sendo 18/43 (41,8%) de leite, 1/20 (5%) de queijo e 12/28 (42,8%) de água. [12]

Em Massachusetts em 2007 foi relatado um surto por listeriose envolvendo cinco pessoas, com óbito de três idosos, associado ao consumo de leite pasteurizado adquirido de um laticínio local. [13] No Brasil *Listeria monocytogenes* têm sido isoladas de ambiente de laticínios processadores de leite fluido. [14] O mesmo patógeno tem sido isolado na linha de produção e ambiente de processamento de queijo minas frescal. [15] Surtos e casos esporádicos de listeriose causados por alimentos ainda não foram descritos no Brasil, embora a ocorrência de *L. monocytogenes* tenha sido relatada em vários tipos de alimentos. [16]

O Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) relatou que em 2008 em dez estados americanos foram confirmados 18.499 casos de infecções causadas por patógenos veiculados por alimentos, sendo que em 7.444 (40,24%) casos o agente etiológico foi *Salmonella*, com incidência de 16,2 casos por 100.000 habitantes. [17] Em um estudo realizado entre 2006 e 2007 no estado do Rio Grande do Sul, verificou-se por análises microbiológicas de alimentos envolvidos em 187 surtos, que 37% deles foram causados por *Salmonella*, com oito atribuídos ao consumo de produtos lácteos. [18]

No Brasil, com o objetivo de estabelecer padrões de qualidade e segurança para alimentos existe o Regulamento Industrial de Inspeção de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). O RIISPOA define que a pasteurização consiste no aquecimento do leite para eliminação de microrganismos patogênicos e redução dos microrganismos deteriorantes, permitindo assim uma maior segurança para os consumidores de leite e derivados. O principal fator para o sucesso da pasteurização é o binômio tempo-temperatura, em que padrões aprovados para o leite são 63-65 ºC por 30 minutos (pasteurização lenta) ou 72-75 ºC por 20 segundos (pasteurização rápida). Para o leite UAT (Ultra Alta Temperatura) o binômio tempo-temperatura é de 130-150 ºC por 2 - 4 segundos e resfriado imediatamente a 32ºC e envase asséptico. [19]

O presente estudo teve o objetivo de estimar a prevalência atual ou passada de consumo, bem como as quantidades de ingestão ao longo da vida, de queijo feito com leite cru e os fatores de risco associados às quantidades de consumo deste tipo de alimento, em populações de alta vulnerabilidade social (pacientes com tuberculose) de Juiz de Fora, Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODO

População e período do estudo. A população do estudo foi recrutada a partir de dois centros de referência em tratamento da tuberculose de Juiz de Fora, Minas Gerais, cidade de aproximadamente 500 mil habitantes, com a maioria deles (98%) residindo no meio urbano na atualidade. Os centros de referência incluídos foram: Hospital Reginal João Penido/Fundação Hospital do Estado de Minas Gerais e Unidade das Clínicas Especializadas do Sistema Único de Sáude. O período do estudo foi de março de 2008 a fevereiro de 2010.

Uma amostra de 189 individuos diagnosticados com tuberculose foi incluída no presente estudo, considerando-se uma população finita de 540 pacientes com TB residentes em Juiz de Fora e outras cidades vizinhas de menor porte, uma proporção atual de consumo de queijo feito com leite cru de 43,9%, um erro relativo de 30,7% e um nível de significância de 0,05.

Dados éticos. Os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos do estudo e um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi obtido de todos eles, sendo o estudo aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (protocolo 819.125.2006) e Hospital Regional João Penido (protocolo 52/08).

Coleta de dados. Após a exposição dos objetivos do estudo, foi realizada uma entrevista, utilizando-se um questionário estruturado, para coletar informações sobre as variáveis comportamentais, padrões de consumo de produtos lácteos e tipos de trabalho. A forma de consumo do queijo (feito com leite fervido, pasteurizado ou cru) foi também determinada.

Delineamento do estudo. Trata-se de um estudo de corte transversal para estimar a prevalência de consumo de queijo feito com leite cru e as quantidades de consumo deste tipo de alimento ao longo da vida.

Variáveis do estudo. O estudo teve como variável resposta (evento) a quantidade de consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida. A definição de queijo feito com leite cru utilizada no presente estudo refere-se ao queijo consumido elaborado a partir de leite não pasteurizado ou não fervido. A quantidade de consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida foi estimada por meio de perguntas abrangendo a freqüência e o período de consumo deste tipo de alimento. A variável quantidade de consumo de queijo elaborado a partir de leite cru ao longo da vida foi definida a partir

da frequência e o período de consumo deste tipo de alimento, construindo-se uma estimativa numérica (unidades de consumo), seguindo a fórmula:

UC = F x P

Onde:

UC = Unidade de consumo;
F = Frequência semanal;
P = Período de consumo (semanas).

As possíveis variáveis explicativas do estudo foram o sexo, idade, renda individual, renda familiar, local de residência, histórico de residência no meio rural, tipo de moradia, ocupação, estado cívil, estado conjugal, histórico do consumo de álcool no último ano, histórico do consumo de álcool em binge no último ano e histórico do consumo de queijo feito com leite cru. As variáveis utilizadas nesse estudo foram classificadas como categóricas e/ou numéricas de acordo com as análises realizadas.

Análises estatísticas. A partir das informações coletadas foi elaborado um banco de dados contendo todas as variáveis do estudo. O software Epi Info *versão 3.5.3* foi usado para gerenciamento e análise dos dados.[20]

Foram realizadas análises descritivas das variáveis qualitativas e quantitativas. Utilizou-se modelos de regressão linear univariados e multivariados para avaliar a relação entre as quantidades de consumo de queijo feito com leite cru e as possíveis variáveis explicativas. Tais modelos foram representados pela equação $\hat{y} = a + \beta x$, em que $\hat{y}$ representa a estimativa da quantidade de consumo de queijo feito com leite cru (variável resposta), a é o coeficiente linear da reta e β (beta da equação) é o coeficiente angular ou coeficiente de regressão linear. O nível de significância considerado foi de 0,05.

A análise multivariada buscou a associação independente entre variáveis explicativas e o consumo de queijo feito com leite cru. As variáveis que foram associadas ao consumo de queijo feito com leite cru na análise univariada com nível de significância $p < 0,20$ e todas aquelas com relevância biológica ou epidemiológica foram consideradas para análise de regressão logística multivariada usando o método "backward".

Utilizaram-se modelos univariados de regressão logística para avaliar a ocorrência de colinearidade e de possíveis fatores de confusão. Nestes casos, a

magnitude das associações foi estimada por "*Odds Ratio"* (OR). O intervalo de confiança foi de 95% e o nível de significância considerado de 0,05.

Finalmente construiram-se modelos não-saturados de regressão linear para avaliar a ocorrência de possíveis fatores de confusão. O nível de significância considerado foi de 0,05.

RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta as características descritivas das variáveis qualitativas (categóricas). A população total do estudo foi de 189 entrevistados. Destes, 139 (73,5%) eram do sexo masculino. Entre os entrevistados, 6 (3,2%) moravam atualmente no meio rural, 54 (28,6%) eram ex-moradores e 73 (38,6%) nunca moraram no meio rural. Do total de entrevistados, 59 (31,2%) já trabalhavam e 73 (38,6%) nunca trabalhavam com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal. Dos 189, 58 (30,7%) eram consumidores atuais e 51(27%) eram ex-consumidores de queijos não pasteurizados.

A tabela 2 apresenta as características descritivas das variáveis quantitativas. A idade mínima e a mediana dos participantes foi de 17 anos e 39 anos, respectivamente. A variável renda familiar apresentou valor mediano de 1,9 sálarios mínimos. A quantidade de consumo de queijo não pasteurizado ao longo da vida apresentou um valor mediano de 279 unidades.

A tabela 3 apresenta os resultados da análise univariada de regressão linear para o consumo de queijo não pasteurizado ao longo da vida. As variáveis sexo, idade, local de residência, estado civil, ocupação relacionada à pecuária e à agroindústria de alimentos de origem animal, histórico de consumo exagerado de álcool no último ano e histórico de consumo atual de queijo (comparado com ex-consumidores) apresentaram associação ($p \leq 0,05$) com a quantidade de consumo de queijo não pasteurizado ao longo da vida.

As tabelas 4 e 5 apresentam, análises multivariadas de regressão linear para a quantidade de consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida. As variáveis local de residência e estado civil apresentaram associação ($p \leq 0,05$) com o consumo de queijo feito com leite cru. As variáveis ocupação (modelo 1) e idade (modelo 2) apresentaram um valor de p "borderline".

As tabelas 4 e 5 mostram que pessoas que moram em outros municípios tem em média 2.581 (modelo1) e 2.794 (modelo 2) unidades de consumo de queijo feito com leite cru a mais ao longo da vida em relação a pessoas que residem em Juiz de Fora.

Entretanto, as variáveis sexo e histórico de consumo de álcool no último ano não permaneceram nos mesmos modelos por estarem mutuamente associadas ($p \leq 0,05$), evidência de colinearidade. Mas, sendo incluídas em modelos separados, cada uma delas apresentou associação com a quantidade de consumo de queijo não pasteurizado ao longo da vida. Pessoas do sexo masculino tem 1.869 unidades de consumo a mais de

queijo feito com leite cru em relação a pessoas do sexo feminino (modelo1). Pessoas que beberam de forma exagerada no último ano tem 1.847 unidades a menos de consumo de queijo feito com leite cru em relação a pessoas que nunca beberam ou não beberam no último ano (modelo 2). A associação dessas duas variáveis quando aplicadas em um modelo de regresão logística univariado mostra que pessoas que beberam de forma moderada em relação a pessoas que não beberam no último ano ou nunca beberam durante a vida tem 3,1 vezes mais chances de serem do sexo masculino ($p = 0,02$). Pessoas que beberam de forma exagerada em relação a pessoas que não beberam no último ano ou nunca beberam tem 4,8 vezes mais chance de serem também do sexo masculino ($p < 0,01$).

A variável histórico do consumo de queijo não pasteurizado não permaneceu nos modelos multivariados finais. Resultados de análises logísticas desta variável com outros possíveis fatores de confusão são apresentados a seguir.

Histórico do consumo de queijo não pasteurizado mostrou associação com sexo. Pessoas que consumiram queijos feito com leite cru em relação às pessoas que nunca este alimento tinham 8,4 vezes mais chances de serem do sexo masculino ($p < 0,01$). Pessoas que já consumiram queijos feito com leite cru em relação às pessoas que nunca consumiram tinham 1,8 vezes mais chances de serem do sexo masculino ($p = 0,19$).

Houve associação de histórico do consumo de queijo também com a variável ocupação. Pessoas que nunca consumiram em relação a pessoas que consumiam queijo feito com leite cru tinham 8,2 vezes mais chances de não trabalharem com atividades relacionadas à pecuária ou áreas afins ($p < 0,01$). Pessoas que já consumiram queijo feito com leite cru em relação às pessoas que consumiam tinham 1,3 vezes mais chances de não trabalharem com atividades relacionadas à pecuária ou áreas afins.

DISCUSSÃO

Este estudo produziu estimativas da prevalência de consumo, bem como das quantidades de queijo feito com leite cru ao longo da vida. Adicionalmente, modelos explicativos univariados e multivariados para a quantidade de consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida foram avaliados.

A taxa de consumo atual (43,9 %) de queijo feito com leite cru do presente estudo foi menor que a de outro estudo (66,5 %) realizado em bairros da periferia de Juiz de Fora. [2] Entretanto, foi encontrada no presente estudo uma taxa expressiva de ex-consumidores de queijo não pasteurizado (38,6 %).

O consumo de leite e derivados não inspecionados no Brasil representa 30,0% do total produzido no país, tornando-se este tipo de alimento um potencial transmissor de patógenos aos seres humanos. [21]

Algumas possíveis explicações para a associação de variáveis indepentes com o consumo de queijo não pasteurizado foram levantadas.

As variáveis sexo, idade, local de residência, ocupação, estado civil e histórico do consumo de álcool no último ano mantiveram-se nos modelos multivariados 1 e 2 e possíveis explicações foram feitas para essas variáveis associadas ao consumo de queijo não pasteurizado e são apresentadas a seguir.

Neste estudo a idade apresentou associação devido ao fato de que a cada ano de vida a mais das pessoas o consumo de produtos informais foi aumentando progressivamente.

Pessoas que moravam em outros municípios (em geral menores que Juiz de Fora) apresentaram maior taxa de consumo. Uma possível explicação para o fato está na facilidade de aquisição desse queijo feito com leite cru, o qual muitas vezes é vendido de porta em porta. Outra possível explicação é que outros municípios, pelo mesmo fato de serem menores, tem maior ligação com o meio rural, onde este produto tem fácil disponibilidade. Sabe-se ainda que algumas famílias da agricultura familiar produzem esse tipo de queijo para o próprio consumo e para venda como meio de sustento familiar.

Foi verificado nesse estudo que trabalhar em atividades relacionadas à pecuária ou agroindústria de produtos de origem animal foi associado à maiores quantidades de consumo, possivelmente porque estas ocupações facilitam o consumo devido à

proximidade do consumidor com o fabricante ou comerciante de produtos informais, ou pelo costume que existe no meio rural de tomar café com queijo não pasteurizado.

A variável estado civil apresentou associação significativa ($p < 0,05$), sendo que pessoas desquitadas ou divorciadas tiveram associação com o consumo de queijos não pasteurizados, possivelmente pelo fato de fazerem a maioria das suas refeições fora de casa, sendo mais expostas ao consumo deste produto em alguns bares, restaurantes, mercearias e padarias.

As variáveis sexo e histórico de consumo de álcool no último ano não puderam permanecer nos mesmos modelos provavelmente devido a um efeito de colinearidade, mas ambas foram significativas para explicar as quantidades de consumo de queijo feito com leite não pasteurizados em modelos multivariados separados.

O sexo masculino esteve associado a maiores quantidades de consumo de queijo não pasteurizado, pois possivelmente homens estão mais diretamente ligados a atividades como pecuária leiteira ou áreas afins. Em estudos realizados em Jacareí e Colatina o consumo de derivados lácteos informais ocorre independente do sexo.[22,23]

O consumo de álcool exagerado foi outra variável associada a quantidades maiores de consumo no presente estudo, possivelmente porque facilita o consumo de queijo não pasteurizado muitas vezes servido como tira-gosto em bares e feiras, em que procura pelo produto artesanal tem grande preferência por esse perfil de consumidores, talvez por serem mais baratos.

Verificou-se, entretanto, que a variável histórico do consumo de queijo não pasteurizado não permaneceu nos modelos explicativos multivariados 1 e 2 para o consumo de queijo não pasteurizado, possivelmente devido a um efeito de confusão. Portanto sexo, ocupação e histórico do consumo de álcool no último ano são variáveis de confusão para relação consumo de queijo não pasteurizado e histórico do consumo de queijo não pasteurizado.

As variáveis tipo de moradia, estado conjugal, histórico do consumo de álcool em binge não permaneceram nos modelos explicativos multivariados 1 e 2 pois apresentaram associação estatística ($p \geq 0,05$) com o consumo de queijo não pasteurizado.

O consumo de leite cru e derivados feitos com leite cru causa inúmeros prejuízos à saúde da população, porém esses dados não são na maioria das vezes, divulgados. O problema é que estes produtos podem oferecer riscos à saúde humana, uma vez que muitos patógenos são veiculados pelo leite (*Mycobacteirum bovis*, *Brucella* spp.,

Campylobacter jejuni, *Escherichia coli*, entre outros microrganismos com potencial risco à saúde humana). O conhecimento dos principais patógenos existentes no leite cru, desde as etapas iniciais de produção, é de extrema importância para a saúde pública, uma vez que a partir desses dados é possível a criação de políticas de controle de doenças causadas por esses agentes. O mais preocupante é que o alimento contaminado com patógenos para humanos, geralmente, não apresenta nenhuma alteração visível (de cheiro, gosto ou aparência), sendo as pessoas, em geral, afetadas sem perceberem.

A criação de políticas e programas de conscientização quanto ao consumo de leite cru e derivados feitos com leite cru é uma ferramenta primordial para o controle das doenças transmitidas por alimentos (DTA'S) e combate ao comércio ilegal destes produtos tanto em municípios de pequeno porte quanto em grandes centros. Aliadas a essas ações, a implementação das boas práticas agropecuárias (BPA) e das boas práticas de fabricação (BPF), em conjunto com um rigoroso controle sanitário dos rebanhos leiteiros podem influenciar diretamente na qualidade dos queijos e demais lácteos produzidos, de modo a garantir a inocuidade desses alimentos.

A maioria dos casos registrados de tuberculose zoonótica nas áreas urbanas e rurais em pacientes não profissionais se deve ao consumo de leite e derivados crus. [4]

Considerando-se o negligenciamento do tipo de inspeção sanitária e/ou desconhecimento do nível de controle higiênico-sanitário dos animais que estão envolvidos com a produção do tipo de leite referido nesse estudo, assim como de seus processos de obtenção, transporte e comercialização, os achados encontrados constituem um motivo de preocupação, principalmente em função do risco representado pelo consumo deste produto sem que tenha sido previamente submetido à fervura.

Conclui-se com este estudo que sexo, idade, local de residência, ocupação, estado cívil e histórico do consumo de álcool no último ano apresentam-se associados ao consumo de queijo feito com leite cru, também denominado informal, explicando assim a relevante taxa encontrada no consumo deste produto nesse estudo, alertando assim autoridades de saúde e agropecuária sobre o risco do consumo deste produto informal.

Adicionalmente, foi verificada uma taxa significativa de consumo informal. Considerando-se o negligenciamento de qualquer tipo de inspeção sanitária e/ou desconhecimento do nível de controle higiênico-sanitário dos animais que estão envolvidos com a produção do tipo de queijo referido no presente estudo, assim como de seus processos de obtenção, transporte e comercialização, os achados aqui relatados

constituem um motivo de preocupação, principalmente em função do risco representado pelo consumo deste produto sem que o leite utilizado na fabricação desse queijo tenha sido previamente submetido à fervura.

Deve ser ainda ressaltado que entre os 189 pacientes com tuberculose do presente estudo foram encontradas três evidências de tuberculose causada por *M. bovis*, sendo que tais pacientes faziam parte de um grupo de risco, estando todos expostos ao agente zoonótico em questão, sendo dois deles consumidores de queijos não pasteurizados e um envolvido com ocupações relacionadas à pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal. [5]

Os resultados de informalidade do consumo de quejo feito com leite cru verificados no presente estudo e as variáveis a ela associadas, bem como os casos de tuberculose zoonótica verificados na mesma população do estudo deveriam servir de alerta tanto para as autoridades de saúde como da agricultura. [5]

COLABORADORES

Os quatro autores contribuíram para o desenvolvimento desse estudo. O planejamento, as atividades de campo e a formação do banco de dados foi realizado por SILVA, MR. As análises dos dados e a primeira versão deste artigo foi feita por ROCHA, BB. As correções foram feitas por SILVA, MR; NUNES, GN e MOREIRA, MAS. Finalmente todos os autores revisaram o artigo antes da submissão.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Gado de Leite pelo apoio na execução do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado concedida a ROCHA, BB e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (suporte financeiro CNPq - 410595/2006-3/MCT/CNPq/MS-SCTIEDECIT 25/2006) pelos recursos destinados ao projeto. Finalmente, ao CNPq pela bolsa de produtividade concedida à MOREIRA, MAS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zoccal R. Leite inspecionado no Brasil 2000/2011. Embrapa Gado de Leite. Fevereiro 2012. http://www.cnpgl.embrapa.br/ (acessado em 15/Agosto/20013).

2. Silva MR, Oliveira ME, Oliveira LD, Rodrigues VB, Fernandes RF. Segurança alimentar: percepção e atitudes de consumidores de áreas peri urbanas de Juiz de Fora - MG. Rev Hig Alimentar 2005; 19 (130): 1-2.

3. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional(IPHAN). Queijos artesanais, 2012. http://www.iphan.*gov.br* *(*Acessado em 03/maio/2013).

4. Guimarães FF, Langoni H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. Vet Zootec 2009; 16: 38-51.

5. Pardo RB, Langoni H, Mendonça LJP, Chi KD. Isolation of *Mycobactrium spp*. in milk from cows suspected or positive to tuberculosis. Braz J Vet Res Anim Sci 2001; 38 (6): 284-7.

6. Silva MR, Rocha AS, Costa RR, Alencar AP, Oliveira VM, Júnior AAF, et al. Tuberculosis in patients co-infected wint *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* in an urban area of Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2013; 106: 321-7.

7. Tenório TGS, Melo LEH, Mota RA, Fernandes CHC, Sá LM, Souto RJC, et al. Pesquisa de fatores de risco para a brucelose humana associados à presença de brucelose bovina no município de Correntes, estado de Pernambuco, Brasil. Arq Inst Biol 2008; 75 (4): 415-21.

8. Metin A, Akdeniz H, Buzgan T, Delice I. Cutaneous findings encountered in brucellosis and review of the literature. Int J Dermatol 2001; 40 (7): 434-38.

9. Langoni H, Ichihara SM, Silva AV, Pardo RB, Tonin FB, Mendonça LJP, et al. Isolation of *Brucella spp* from milk of brucellosis positive cows in São Paulo and Minas Gerais states. Braz J Vet Res Anim Sci 2000; 37 (6): 444-48.

10. Butzler JP. *Campylobacter*, from obscutity to celebrity. Clin Microbiol Infect 2004; 10 (10): 868-76.

11. Cieves. Centro de Informações e Respostas Estratégicas de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância e Controle de Agravos Estratégicos. Superintendência de Vigilância em Saúde. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná. 2012.
http://www.sesa.pr.gov.br/arquivos/File/.../2012/informeSE07errata.pdf (acessado em 23/Maio/2013).

12. Kobayashi PF. Monitoramento dos principais agentes zoonóticos em leite e seus derivados de origem clandestina, provenientes de animais criados às margens do rio Tietê. **[**Dissertação]. São Paulo: Instituto Biológico; 2012.

13. Centers for Diseases Control and Prevention. Outbreak of *Listeria monocytogenes* infections associated with pasteurized milk from a local dairy, Massachusetts, 2007. Morb Mortal Wkly Rep 2008; 57 (40): 1097-100.

14. Figueiredo EAT. Ocorrência do gênero Listeria e avaliação da diversidade genética de *Listeria monocytogenes* através do random amplified polymorphic DNA (RAPD) e sua distribuição em linha de processamento de leite pasteurizado tipo "C". [Tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2000.

15. Barancelli GV, Camargo TM, Arruda NF, Barbosa AV, Porto E, Oliveira CAF, et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em linha de produção e ambiente de processamento de queijo Minas frescal. In: Anais do Congresso Brasileiro de Microbiologia; 2009 Nov 8-12; Porto de Galinhas, Brasil. Ipojuca: SBM; 2009.

16. Borges MF, Andrade APC, Arcuri EF, Kabuki DY, Kuaye AY. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos. Documento 119. Embrapa Agroindústria Tropical. Fortaleza, Ceará. 2009. www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_119.pdf *(*acessado em 15/Maio/2013).

17. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Outbreak of *Salmonella* serotype Saintpaul infections associated with multiple raw produce items, United States, 2008. Morb Mortal Wkly Rep 2009; 57 (34): 929-34.

18. Welker CAD, Both JMC, Longaray SM, Haas S, Soeiro MLT, Ramos RC. Análise microbiológica dos alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. R Bras Bioci 2010; 8 (1): 44-8.

19. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Defesa Animal. Regulamento Industrial de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Brasil, 2008. http://www.agricultura.gov.br (acessado em 15/Maio/2013).

20. Dean AG, Arner TG, Sunki GG, Friedman R, Lantinga M, Sangam S, et al. Epi Info™, a database and statistics program for public health professionals. CDC, Atlanta, GA, USA, 2011.20.

21. Rubez J. Consumo de leite cru traz riscos para a saúde. Feed & Food 2012. http://www.feedfood.com.br/consumo-de-leite-cru-traz-riscos-para-a-saude (acessado em 23/Maio/2013).

22. Liro CV, Granja REP, Zocche F. Perfil do consumidor de leite no vale do rio São Francisco, Pernambuco. Ciênc. Anim. Bras. 2011;14 (4):718-26.

23. Sousa DDP. Consumo de produtos lácteos informais em Jacareí- SP. São Paulo, 2005. 114 f. Dissertação. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo; 2005.

TABELAS

Tabela 1. Características descritivas da população do estudo (n=189), Juiz de Fora, 2008-2010 (variáveis qualitativas)

Característica	*n (%)*
Sexo	
Masculino	139 (73,5)
Feminino	50 (26,5)
Cor da pele	
Branco	48 (25,4)
Negro ou pardo	67(34,4)
Ignorado	74 (40,2)
Nível de Escolaridade	
Nenhuma até a 4ª série ensino fundamental	61 (32,3)
5ª a 8ª série ensino fundamental	53 (28,0)
Ensino médio incompleto até superior complete	31 (16,0)
Ignorado	44 (23,7)
Local de residência	
Juiz de Fora	161 (85,2)
Outros municípios	28 (14,8)
Histórico de residência no meio rural	
Moradores atuais	6 (3,2)
Ex-moradores	54 (28,6)
Nunca moraram	73 (38,6)
Ignorado	56 (29,6)
Tipo de moradia	
Barraco/Quarto/Presídio/Albergue/Hospital Psiquiátrico	22 (11,6)
Casa/Apartamento	118 (62,4)
Ignorado	49 (26,0)
Ocupação	
Trabalham com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	59 (31,2)
Não trabalham com as atividades acima	73 (38,6)
Ignorado	57 (30,2)
Estado civil	
Solteiro	82 (43,4)
Desquitado/Divorciado	12 (6,3)
Casado/Viúvo	5 (2,6)
Ignorado	90 (47,7)
Estado conjugal	
Nunca morou com parceiro sexual	24 (12,8)

Já morou com parceiro sexual	53 (28,0)
Mora com parceiro sexual	56 (29,6)
Ignorado	56 (29,6)
Histórico do consumo de álcool no último ano	
Beberam de forma exagerada	54 (28,6)
Beberam de forma moderada	33 (17,5)
Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	48 (25,4)
Ignorado	54 (28,5)
Histórico do consumo de álcool em binge no último ano	
Binge de uma a mais vezes por semana	38 (20,1)
Binge de uma vez ao mês a uma vez ao ano	28 (15,0)
Nunca bebeu binge no último ano	42 (22,2)
Nunca bebeu ou nunca bebeu em binge	21 (11,1)
Ignorado	60 (31,6)
Diagnóstico sorológico para HIV	
Positivo	24 (12,7)
Negativo	86 (45,5)
Ignorados	79 (41,8)
Histórico do consumo de queijo feito com leite cru	
Consumidores atuais	58(30,7%)
Ex-consumidores	51(27%)
Nunca consumiram	23(12,2%)
Ignorados	57(30,1%)

Tabela 2. Características descritivas da população do estudo (n=189), Juiz de Fora, 2008-2010 (Variáveis quantitativas)

Característica	***Valor mínimo***	***25%***	***Mediana***	***75%***	***Valor Máximo***	***Moda***
Idade	17,0	30,0	39,0	50,0	83,0	25,0
Renda Individual	0,0	0,3	1,0	1,3	12,9	0,0
Renda Familiar	0,0	1,0	1,9	2,8	24,0	1,0
Histórico do consumo de queijo feito com leite cru	0,0	9,0	279,0	1272,0	21840,0	0,0

Tabela 3. Análise univariada para o consumo de queijo feito com leite cru longo da vida.

Variável	***Coeficiente***	***Valor de p***
Sexo		
Masculino/Feminino	2483,5	<0,01
Idade	90,1	<0,01

Renda Individual	0,0	0,86
Renda Familiar	0,0	0,76
Local de Residência		
Morar em outro município/Mora em Juiz de Fora	3923,9	<0,01
Histórico de residência no meio rural		
Já morou/Mora	1546,6	0,47
Nunca Morou/Mora	-1321,7	0,53
Tipo de moradia		
Casa ou apartamento/Barraco ou quarto ou presídio ou albergue ou hospital psiquiátrico	-1515,1	0,18
Ocupação		
Quem não trabalha /Trabalha com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	-2378,8	<0,01
Estado civil		
Desquitado ou divorciado/Solteiro	3619,5	<0,01
Casado ou viúvo/Solteiro	-1156,2	0,47
Estado conjugal		
Mora com parceiro sexual/Nunca morou com parceiro sexual	1483,5	0,18
Já morou com parceiro sexual/Nunca morou com parceiro sexual	-1156,2	0,47
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Bebeu de forma moderada/Bebeu de forma exagerada	-1182,9	0,24
Nunca bebeu ou não bebeu no último ano/Bebeu de forma exagerada	-2315,9	0,01
Histórico do consumo de álcool em binge no último ano		
Binge uma vez ano a uma vez ao mês/ Binge uma vez semana a mais de uma vez por semana	-1923,5	0,12
Nunca bebeu binge no último ano/ Binge uma vez semana a mais de uma vez por semana	-974,9	0,32
Nunca bebeu ou nunca bebeu em binge/Binge uma vez semana a mais de uma vez por semana	-1923,5	0,12
Histórico do consumo de queijo feito com leite cru		
Ex-consumidores/Consumidores atuais	-1559,9	0,06
Nunca consumiram/Consumidores atuais	-3235,6	< 0,01

Tabela 4. Análise multivariada para o consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida (modelo 1)

Variável	*Coeficiente*	*Valor de p*
Sexo		
Masculino /Feminino	1869,2	0,02
Idade	51,8	0,05
Local de residência		
Outros municípios/Juiz de Fora	2581,8	0,05
Ocupação		
Quem não trabalha /Trabalha com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	-1320,2	0,06
Estado civil		
Desquitado ou divorciado/solteiro	2348,8	0,03
Casadou ou viúvo/solteiro	-2882,7	0,07

Tabela 5. Análise multivariada para o consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida (modelo 2)

Variável	*Coeficiente*	*Valor de p*
Idade	49,7	0,07
Local de residência		
Outros municípios/Juiz de Fora	2794,9	0,03
Ocupação		
Quem não trabalha /Trabalha com pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal	-1625,3	0,02
Estado civil		
Desquitado ou divorciado/solteiro	2356,3	0,03
Casadou ou viúvo/solteiro	-2016,0	0,21
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Beberam de forma moderada/nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-416,1	0,66
Beberam de forma exagerada/Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1847,0	0,02

Tabela 6. Modelo de regressão logística univariado relacionando histórico do consumo de álcool no último ano com o sexo

Variável	**Razão de chance**	*Coeficiente*	*Valor de p*
Histórico do consumo de álcool no último ano			
Beberam de forma moderada/ Não bebeu no último ano ou nunca bebeu	3,1	1,1	0,02
Beberam de forma exagerada/Não bebeu no último ano ou nunca bebeu	4,8	1,5	< 0,01

Tabela 7. Modelo de regressão linerar não saturado para relação de histórico de residência no meio rural, histórico do consumo de álcool e histórico do consumo de queijo feito com leite cru com o consumo de queijo feito com leite cru ao longo da vida

Variável	*Constante*	*Valor de p*
Histórico do consumo de queijo		
Pessoas que nunca consumiram/pessoas que consomem	-1189,6	0,14
Histórico de residência no meio rural		
Pessoas que já moraram/pessoas que moram	-2105,4	< 0,01
Histórico do consumo de álcool no último ano		
Bebeu de forma moderada/Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-817,8	0,40
Bebeu de forma exagerada/ Nunca bebeu ou não bebeu no último ano	-1936,3	0,03

CAPÍTULO IV

Ocorrência de *Mycobacterium bovis* em queijo coalho em Parnaíba, Piauí – Brasil

Occurrence of *Mycobacterium bovis* in coalho cheese in Parnaíba, Piauí – Brazil

Ocurrencia de *Mycobacterium bovis* en queso coalho en Parnaíba, Piauí – Brasil

Artigo a ser submetido ao "**Cadernos de Saúde Pública"**

ROCHA, B.B.; SILVA, M.R.; SOUZA, G.N.; MOREIRA, M.A.S.

RESUMO

Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a ocorrência de *Mycobacterium bovis* no queijo Coalho produzido e comercializado no estado do Piauí. Por um período de dois meses, 30 amostras de queijo Coalho, procedentes do comércio formal (supermercados, padarias, mercadinhos) e informal (feiras, mercado aberto e banquinhas na rua), do município de Parnaíba, Piauí, foram avaliadas. As amostras foram adquiridas e acondicionadas em caixas isotérmicas refrigeradas, onde posteriormente foram encaminhadas para a Embrapa Gado de Leite para análises. Para a pesquisa foram realizados cultivos microbiológicos em meios Stonebrink (SB) e Löwenstein-Jensen (LJ) e análise molecular por meio da reação em cadeia da polimerase pela transcriptase reversa (qRT-PCR). Não foi obtido nenhum isolamento de *M. bovis* das amostras cultivadas, porém a análise para qRT-PCR identificou três evidências moleculares deste agente zoonótico. Esse achado deve servir de alerta para autoridades dos setores saúde e agricultura sobre a possibilidade de transmissão desse patógeno aos humanos pela via digestiva e da necessidade de um maior controle do comécio informal de lácteos.

Palavras-chave: bactéria; produto lácteo, pasteurização; micobacterias; tuberculose

ABSTRACT

This study was developed to evaluate the occurrence of *Mycobacterium bovis* in cheese curd produced and marketed in the state of Piaui. For a period of two months, 30 samples of cheese curd, coming from formal trade (supermarkets, bakeries, markets) and informal (fairs, open market banquinhas the street), the city of Parnaíba, Piauí, were evaluated. Samples were acquired and placed in cool boxes containing ice, which were later sent to the Embrapa Gado de Leite for analysis. For the research of *M. bovis* was grown in microbiological media Stonebrink (SB) and Lowenstein-Jensen (LJ) and molecular analyzes by polymerase chain reaction by reverse transcriptase (qRT-PCR). No isolation of *M. bovis* from cultured samples, however, the analysis for qRT-PCR identified three molecular evidence of this zoonotic agent. This finding should be an alert to health and agriculture authorities about the possibility of the transmission of this pathogen to humans by the digestive route and the need for a greater control of the informal traded milk.

Keywords: bacterium, dairy product, pasteurization, mycobacteria, tuberculosis.

RESUMEN

Este estudio fue desarrollado para evaluar la presencia de *Mycobacterium bovis* en la cuajada de queso producidos y comercializados en el estado de Piauí. Durante un período de dos meses, 30 muestras de queso fresco, provenientes del comercio formal (supermercados, panaderías, mercados) e informal (ferias, banquinhas mercado abierto de la calle), se evaluó la ciudad de Parnaíba, Piauí. Las muestras fueron adquiridas y se colocan en cajas frías contienen hielo, que más tarde fueron enviados a los Embrapa Gado de Leite para el análisis. Para la investigación de *M. bovis* se cultivó en Stonebrink medios microbiológicos (SB) y Lowenstein-Jensen (LJ) y moleculares analiza y el análisis molecular por reacción en cadena de la polimerasa por transcriptasa inversa (qRT-PCR). Sin aislamiento de *M. bovis* de muestras cultivadas; sin embargo, el análisis de qRT-PCR identificó tres pruebas moleculares de este agente zoonótico. Este resultado debe servir como una advertencia a las autoridades de los sectores de salud y agricultura de la posibilidad de la transmisión de este patógeno para los seres humanos por el tracto gastrointestinal y la necesidad de un mayor control de la comercialización de los productos lácteos informales.

Palabras-clave: bacteria, producto lácteo, pasteurización, micobactérias, tuberculosis.

INTRODUÇÃO

O queijo é o derivado lácteo mais antigo, sua origem acredita-se que tenha sido por volta de 11.000 a.C. Os egípcios foram um dos primeiros povos que por meio da criação de gado, usaram o leite e o queijo para o consumo humano. [1] A Bíblia relata consumo de leite e seus derivados por volta do ano de 1.050 a.C., em que o rei David mencionava a fabricação destes alimentos. [2]

A técnica da fabricação de queijos surgiu devido a dificuldade de conservação do leite, este era conservado em recipiente feito com couro do estômago de carneiro parcialmente seco o que levou o leite à coagulação, com a separação do soro. Este relato marca a descoberta do processo de coagulação, que aocnteceu através da reação química entre o leite e o couro, que serve como base até os dias de hoje para o desenvolvimento de técnicas em que os elementos de valor nutritivo do leite sofrem uma transformação tornado-se alimentos sólidos. [3]

A fabricação de queijos no Brasil teve como ponto de partida a chegada dos portugueses, que já tinham um alto consumo deste produto que era produzido com leite de cabra. O queijo começou a ganhar espaço na mesa dos brasileiros juntamente com o desenvolvimento da cafeicultura em São Paulo, nessa época os imigrantes consumiam este produto como refeição, em acompanhamento e como condimento. [4] A primeira indústria de queijos a surgir na América do Sul foi por volta de 1888, construída no Brasil, em Minas Gerais, na Serra da Mantiqueira. [5]

O termo artesanal, segundo o Dicionário Larousse da Língua Portuguesa, é aquilo que "é elaborado segundo os métodos tradicionais, individuais", e também "o que é feito através de meios rudimentares, às vezes sem qualquer método; que apresenta feitura grosseira". [6]

O queijo coalho é produzido há mais de 150 anos, em várias regiões do Nordeste do Brasil. O grande problema é que não existe padronização no seu processo de fabricação, em que é comum o emprego de leite cru, fazendo com que esse alimento se torne um possível risco à saúde humana. [7] O nome "coalho" é oriundo da utilização do coalho natural em seu processo de fabricação. Na região nordeste é um dos principais queijos artesanais comercializados e consumidos, sendo incorporado à cultura regional. Contudo, o queijo coalho devido as suas características como sabor peculiar e principalmente sua maneira de consumo, vem ganhando mercado em outras regiões do Brasil, entre elas a região Sudeste. [1]

Esse tipo de queijo é servido na maioria das vezes frito, fazendo parte do café da manhã da população nordestina, ou é utilizado como ingrediente para pratos típicos tradicionais da região, como o baião de dois, a tapioca e a canjica. Na região Sudeste esse tipo de queijo é vendido em praias da região por vendedores em barracas que assam o queijo ou fazem pastéis como recheio desse e vendem para os banhistas, tendo alta aprovação. [1] É considerado um alimento rico em proteínas de alto valor biológico, além de conter alto teor de cálcio, fósforo, zinco, iodo, selênio e vitaminas sendo encontrado em todo o mundo mais de 1.000 tipos, com variadas formas e sabores. [8]

Como atividade sócio-econômica, a produção de queijo coalho é obtida em pequenas e médias queijarias no Nordeste do Brasil, onde mensalmente movimentam 10 milhões de reais, ressaltando que essa atividade é de grande importância no cenário econômico da região. [9]

Foi criada uma legislação específica para a produção de queijo coalho, em que dados de identidade e requisitos mínimos de qualidade são encontrados no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Produtos Lácteos para o Queijo de Coalho. Segundo este regulamento, o queijo coalho deve ser obtido por coagulação do leite através do coalho ou de outras enzimas coagulantes apropriadas, complementadas ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas. O seu processo de fabricação é regulamentado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). [10]

Estima-se que no Brasil, a produção artesanal representa 40% do volume total de queijos produzido no país, assumindo assim uma fatia considerável do mercado de lácteos. [1]. E de acordo com Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, dentre os países da América, o Brasil é o segundo maior produtor de queijo em toneladas. [10]

Apesar de sua importância econômica, grande popularidade, e uma legislação própria para a fabricação, o queijo coalho não garante uma qualidade microbiológica segura ao consumo. É necessário que o processo tradicional, geralmente artesanal e a partir de leite cru, acompanhe a evolução das técnicas queijeiras mediante a não modificação de suas características sensoriais e organolépticas e que busque sempre, uma matéria prima de boa qualidade.

A criação de políticas e programas de conscientização quanto ao consumo de leite cru e derivados feitos com leite cru é uma ferramenta primordial para o controle das doenças transmitidas por alimentos (DTA'S) e combate ao comércio ilegal destes produtos tanto em municípios de pequeno porte quanto em grandes centros. Aliadas a essas ações, a implementação das boas práticas agropecuárias (BPA) e das boas práticas

de fabricação (BPF), em conjunto com um rigoroso controle sanitário dos rebanhos leiteiros podem influenciar diretamente na qualidade dos queijos e demais lácteos produzidos, de modo a garantir a inocuidade desses alimentos.

A adequação necessária durante a produção, processamento, estocagem e distribuição de um alimento objetivando a integridade e inocuidade do mesmo são pontos primordiais na segurança alimentar. [11] A segurança alimentar é uma preocupação constante tanto para consumidores quanto para setores da produção. [12]

Um estudo realizado em Juiz de Fora, Minas Gerais mostrou que entre os 189 pacientes com tuberculose foram encontradas três com evidências de tuberculose causada por *M. bovis.* Estes pacientes faziam parte de um grupo de risco, estando todos expostos ao agente zoonótico em questão, sendo dois deles consumidores de queijos não pasteurizados e um envolvido com ocupações relacionadas à pecuária ou agroindústria de alimentos de origem animal. [13]

Devido à importância sócio-econômica do queijo coalho na alimentação da população e devido ao fato de o produto artesanal ser processado utilizando completamente ou em parte leite cru, este estudo teve como objetivos isolar, identificar e pesquisar a ocorrência de *M. bovis* nos referidos queijos produzidos e comercializados em Parnaíba, Piauí.

MATERIAL E MÉTODO

Amostras. Previamente, foram cadastrados 65 pontos de venda de queijo coalho no município de Parnaíba, Piauí, dos quais foram adquiridas trinta amostras de queijo provenientes do comércio formal (supermercados, padarias, mercadinhos) e informal (feiras, mercado aberto e banquinhas na rua). Todos os queijos que compõe essa amostra do estudo foram feitos com leite cru, e não passaram por nenhum órgão de inspeção-sanitária. As amostras foram adquiridas em sete datas, de 28 de novembro de 2011 a 23 de janeiro de 2012, sendo as coletas realizadas às segundas-feiras, exceto nas semanas em que havia feriados, pois os queijos eram enviados no mesmo dia para outro estado, Pernambuco. As amostras foram enviadas à Embrapa Gado de Leite (Juiz de Fora), refrigeradas com gelo reciclável, embaladas (bag estéril) individualmente e identificadas.

Processamento das amostras. As amostras foram processadas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Laticínios Cândido Tostes de Juiz de Fora – MG.

O processamento foi realizado de acordo com a metodologia proposta com as etapas descritas a seguir. [14] As amostras de queijo foram pesadas e 25 gramas de cada amostra foram colocados em um copo do triturador Blender, previamente esterilizado, juntamente com 225 ml de água peptonada a 0,1%; após a adição da água peptonada. O conteúdo do copo foi triturado em velocidade baixa por 30 segundos e em alta por mais 30 segundos. O homogenato obtido foi transferido para outra bag estéril, identificado e enviada ao Hospital Regional João Penido\FHEMIG.

Isolamento clássico de M. bovis. Esta etapa de isolamento ocorreu em um laboratório de diagnóstico de tuberculose, situado no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, e localizado no Hospital Regional João Penido/Fhemig.

Após o processamento, o homogenato obtido foi descontaminado pelo método de Darzins (Anexo A). [15] Os sedimentos obtidos foram semeados simultaneamente em tubos contendo os meios Stonebrink, SB (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, Brasil) e Löwenstein-Jensen, LJ (bioMérieux, Brasil) e, realizadas leituras aos 7, 30, 45, 60 e 90 dias de incubação à 36,5-37º C. Somente foi considerado sem crescimento os tubos que permaneceram incubados por no mínimo 60 dias sem nenhuma evidencia de colônia característica de *M. bovis*. [16]

Características de cultivo: As micobactérias são bacilos aeróbios, imóveis e não formadoras de esporos, desprovidas de cápsulas, com um alto teor de lipídios de

elevado peso molecular na parede e álcool-ácido resistente (BAAR). [17] *M. bovis* cresce mais lentamente (aproximadamente a partir de 21 dias), é microaerófilo e tem uma temperatura ótima de crescimento de 36,5-37 ºC. A morfologia colonial é disgônica e não-cromógena, apresentando coloração creme à amareladas, com bordas irregulares e superfície granular. [18,19]

Análises moleculares. Para a realização de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qRT-PCR), 25 gramas de cada amostra de queijos coalho foram enviadas ao Laboratório Nacional de Agricultura (Lanagro-MG), localizado em Pedro Leopoldo Este laboratório é de referência do MAPA e possui nível 3 + de segurança. Seguiu-se a metodologia usada no referido laboratório.

Em um tubo de 2,0 ml foi colocado 25 mg da amostra de queijo e 1,0 ml de solução de lavagem alcalina. Foi feita maceração e a homogeneização através do vortex (centrifugação 17.760 x*g* por 20 minutos a 4º C). Foi descartado o sobrenadante e feita ressuspensão do pellet em 200 µl de tampão Tris EDTA - TE (1X) e acrescentado 60 µl de lisozima (10 mg/mL). Foi feita incubação à 37º C por 1 hora. Após foi acrescentado 60 µl de SDS 10% e 40 µl de proteinase K (10 mg/mL) e realizada incubação à 56º C por duas horas.

Protocolo de extração de DNA pelo Fenol/Clorofórmio: a continuação do processo foi feita de acordo com o protocolo de extração utilizado pelo Lanagro-MG. Foram adicionados 200 µl de fenol saturado com pH 8,0 e feita homogeneização por inversão. A centrifugação foi feita por 5 minutos a 434 x *g*, coletada a fase aquosa (superior) e transferida para um novo tubo. Foram adicionados 220 µl de clorofórmio\álcool isoamílico (24:1) (Sigma/ USA e Vetec/Brasil) ao novo tubo e, em seguida foi feita homogeneização por inversão e centrifugação a 18327 x *g* por 5 minutos. Novamente, a fase aquosa (superior) foi coletada e transferida para um novo tubo. Em seguida, foram adicionados duas vezes o volume da fase aquosa coletada de etanol 95%. (Tedia, Brasil) e 0,1 vez de acetato de amônio (Vetec/Brasil) e posteriormente, realizada a homogeneização utilizando o vortex (Phoenix Luferco/Modelo AP-56/Brasil). A solução obtida foi mantida a -80ºC por 1 hora, em seguida centrifugada por 10 minutos a 1327 x *g* e o etanol foi descartado. Para purificar o DNA, 500 µl de etanol a 70% foi usado. Foi feita nova centrifugação por 10 minutos à 18327 x *g*, descartado o sobrenadante e o pellet foi seco em papel absorvente por 10 minutos. O pellet foi ressuspenso em 100 µl de tampão TE pH 8,0 e armazenado à -20º C.

Técnica de PCR em Tempo Real: Todas as 30 amostras de queijo coalho foram submetidas à extração de DNA e posteriormente à realização da qRT-PCR. O gene da *Beta actina* foi usado para avaliar a qualidade do DNA extraído (Quadro1). [20] Para a detecção de *M. bovis* foi utilizado sequência de inserção *RD4 (MB88*) [21], descrita no quadro 2. A mistura da reação continha: 2,5 µl H_2O ultra pura; 12,5 µl Mix (Real qPCR Master Mix, Dinamarca**)**; 1,5 µl IF (10pmol) (Sigma, USA); 1,5 µl IR (10pmol) (Sigma, USA); 2,0 µl Sonda (5pmol) (Sigma, USA); 2,0 µl $MgCL_2$ (50nmol) (Invitrogen, Brasil), totalizando 25 µl por tubo (22µl de mix + 3µl de DNA). A programação dos ciclos foi segundo protocolo estabelecido pelo Lanagro-MG, estando ainda em fase de publicação.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontradas no presente estudo três evidências moleculares (10%) de *M. bovis* nas amostras de queijos coalho analisadas. Esse fato sugere que esse agente zoonótico poderia estar viável na matéria prima (leite cru) e no queijo coalho fresco.

Nesse estudo não houve crescimento característicos de colônias de micobactérias em nenhum dos meios de crescimento utilizados, até 60 dias após a semeadura. Em um trabalho realizado, cerca de 10% das amostras de *M. bovis* só apresentam colônias visíveis após 60 dias de cultivo. [22] Porém deve ser observado o crescimento de possíveis colônias de *M. bovis* até 90 dias, devido às características de crescimento disgônico e lento dessa bactéria. [19]

A utilização de dois meios de cultura para isolamento de *M. bovis* é realizada devido à diferença dos constituintes de ambos. O meio Stonebrink (SB) contem piruvato de sódio, enquanto o Löwenstein-Jense (LJ) contem glicerol. O meio SB é mais indicado e permanece como padrão ouro para o isolamento primário e detecção do *M. bovis*, pois o bacilo bovino tem dificuldade em crescer em meios de cultura que contém glicerol.[17]. Em um isolamento primário, o crescimento de *M. bovis* em meios de cultura que contenham glicerol é muito pobre, mas subculturas permitem sua adaptação ao meio. Entretanto, para melhor crescimento desse microrganismo o glicerol deve ser substituído por piruvato de sódio. Devido a isso, no presente estudo esse procedimento foi realizado, porém sem sucesso [23,24]

O emprego de ovos nos meios de cultura como SB é realizado pelo fato de que as micobactérias são exigentes em lipídios disponíveis na gema. [25] Para o cultivo de *M. bovis* o meio SB a base de ovo com piruvato de sódio apresenta melhores resultados comparado a outros meios. [26]

As micobactérias são altamente exigentes no que se refere a nutrientes, em comparação com outras bactérias patogênicas. Essas características facilitam a multiplicação de contaminantes menos exigentes, o que torna indispensável a descontaminação previamente à tentativa de isolamento. [27] Embora este processo seja necessário para eliminar os microrganismos contaminantes de crescimento rápido, ele pode também eliminar células viáveis de *M. bovis*, principalmente quando o agente está em pequenas concentrações. [27]

Embora, a literatura seja limitada sobre a inativação de *M. bovis* durante a cura de queijo, alguns trabalhos são encontrados em diferentes tipos deste derivado lácteo.

Esse patógeno foi encontrado em queijo branco Búlgaro, confeccionados com leite artificialmente contaminado, depois de 120 dias de armazenamento. Em queijo Emmental Suiço células viáveis de *M. bovis* foram encontradas depois de cinco dias, em Gruyere depois de 22 dias, em Camembert por 47 dias e em queijo Tilsitier Suiço depois de 305 dias. Adicionalmente, esta bactéria mostrou-se viável por dois meses em Camembert e Edam, mais de 180 dias em Camembert e 220 dias em Cheddar. Em queijo azul feito com leite cru contaminado, *M. bovis* ainda estava presente após três a quatro meses de maturação. [28] Em seis queijos Emmental confeccionados com leite artificialmente contaminado e inoculados em cobaias, verificou-se que um grupo de cobaias desenvolveu a tuberculose ao serem inoculados por um queijo, após três meses de maturação. [28]

Estudo realizado nos Estados Unidos envolvendo 203 amostras de queijo fresco adquiridas do comércio informal do México, 10 (4,9%) amostras foram positivas para micobactérias do gênero *Mycobacterium*, sendo que uma delas foi positiva para *M. bovis*. A capacidade de recuperar *M. bovis* a partir de leite cru é bem documentada, especialmente a partir do leite obtido a partir de bovinos que residem em áreas com uma elevada prevalência regional da tuberculose bovina. [29]

As três evidências moleculares encontradas nas amostras analisadas (10%) para *M. bovis* foram caracterizadas utilizando-se a técnica de qRT-PCR. Uma pesquisa realizada com produtos clandestinos apreendidos no estado de São Paulo também verificou, por diagnóstico molecular, que o DNA de *M. bovis* estava presente em 17 (22,7%) das 76 amostras de queijo analisadas. [31]

O isolamento e identificação de *M. bovis*, como as demais micobactérias, por técnicas fenotípicas, em amostras de produtos de origem animal é um processo difícil e trabalhoso, principalmente devido às exigências de cultivo e ao longo tempo de crescimento. Assim, provas moleculares estão auxiliando na identificação de agentes patogênicos, embora não seja possível identificar a viabilidade do microrganismo presente.

Um fato que deve ser ressaltado no presente estudo, que reforça as evidências de viabilidade de *M. bovis* na amostra de queijo original, é que este tipo de queijo analisado (coalho), é processado utilizando-se como matéria prima leite exclusivamente cru. Adicionalmente, na sua elaboração, a massa desse queijo chega a uma temperatura variando de 25º - 34º C por 60 minutos, um binômio tempo-temperatura não efetivo para a completa eliminação de agentes patogênicos como *M. bovis*. [30]

Inúmeros protocolos são utilizados para extração de DNA de amostras clínicas, muitos deles utilizam kits comerciais, outros utilizam protocolos mais simples, como exemplo a extração por solventes orgânicos (fenol-clorofórmio), sem que haja um consenso de qual melhor método a ser empregado. [32]

Os protocolos a base de fenol-clorofórmio são viáveis para diagnóstico de rotina em leite devido à facilidade, custo acessível e tempo necessário para sua realização. [33] Este foi o protocolo usado no presente trabalho. Levando-se em consideração o resultado do teste utilizando a *Beta-actina*, constatou-se que a extração foi bem sucedida, embora sabe-se que a principal limitação do uso de fenol-clorofórmio é que ele pode implicar em maiores degradações de DNA, devido a oxidação do DNA pelos compostos fenólicos. Outros complicadores do sucesso da técnica molecular usada, além da degradação do DNA, podem ser atribuídos à escolha correta dos *primers* para amplificação, temperaturas de anelamento e extensão, dentre outros. [34]

A taxa de evidências moleculares de *M. bovis* (10%) encontrada nesse estudo, mesmo sem ter ocorrido o isolamento clássico, alerta as autoridades sobre a necessidade de mais pesquisas visando à busca desse patógeno em humanos, animais e alimentos, bem como estudos visando à padronização do processo de produção de queijos artesanais, buscando garantir a inocuidade desse produto.

As evidências moleculares de *M. bovis* nos queijos coalho encontradas no presente estudo sugerem que a infecção a seres humanos por meio do consumo de produtos lácteos não pasteurizados é possível. Esta fonte de infecção tem sido implicada em diversos surtos humanos de tuberculose zoonótica. [35,36]

Em um estudo realizado no Brasil, Juiz de Fora – MG, de 189 pacientes diagnosticados com tuberculose, três (1,5%) apresentaram co-infecção *M. bovis- M. tuberculosis.* Essas três co-infecções foram associadas ($p<0,05$) ao consumo de queijos artesanais, processados a partir de leite cru. [13]

Conclui-se que *M. bovis* é um importante agente zoonótico que pode ser veiculado através do leite e lácteos não pasteurizados, oferecendo risco à saúde humana. Entretanto, a implementação das boas práticas agropecuárias (BPA) e das boas práticas de fabricação (BPF), aliadas a um rigoroso controle sanitário dos rebanhos leiteiros podem influenciar diretamente na qualidade dos queijos e demais lácteos produzidos, de modo a garantir a inocuidade desses alimentos.

QUADROS

Quadro 1. Seqüência dos iniciadores para *Beta actina*

Oligonucleotídeo	*Sequência*	*Referência*
Beta Actina	F – TGCCGGAGCCGTTGT R – AACCAGTTCGCCATGGAT S – [CY5]TGATATTGCTGCTCGTGGTC[BHQ2]	Bielanski,2009

Quadro 2. Seqüência dos iniciadores para *RD4 (MB88) Bomb.*

Oligonucleotídeo	*Sequência*	*Referência*
Mbo.RD4.88	F – CGCCTTCCTAACCAGAATTG R – GGAGAGCGCCGTTGTAGG S - [6-FAM]AGCCGTCGCA[BHQa-Q]	Bielanski,2009

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Gado de Leite e ao Laboratório Nacional de Agropecuária de Pedro Leopoldo (LANAGRO) pelo apoio na execução do projeto, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de mestrado concedida a ROCHA, BB e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (suporte financeiro CNPq - 410595/2006-3/MCT/CNPq/MS-SCTIEDECIT 25/2006) pelos recursos destinados ao projeto. Finalmente, ao CNPq pela bolsa de produtividade concedida à MOREIRA, MAS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Sebrae. Queijos Nacionais- Leite e Derivados. Estudo de Mercado Sebrae\ESPM 2008. 34p.

2. Souza EA. Tecnologia da fabricação de queijos. Juiz de Fora: Revista do I.L.C.T., 1960, 116p.

3. Albuquerque IA. Produção e composição físico-química do leite de cabras puras e mestiças da raça Saanen no Estado do Ceará. Fortaleza: UFCE, 2009. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal do Ceara, 2009.

4. Cascudo LC. História da Alimentação no Brasil. 1ª edição, 2004, São Paulo: global editora.

5. Novais G. 100 anos de indústria de laticínios no Brasil. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, V. 13, n. 155, p.1, 1988.

6. Larouse PA. Dicionário Larrouse Português- Inglês Essencial Atualizado. Editora Larousse, edição nº 2, 744p. 2009. São Paulo.

7. Cavalcante JFM, Andrade NJ, Furtado MM, Ferreira CLLF, Pinto CLO, Elard E. Processamento de queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura lática endógena. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.27, n.1, p.205-214, 2007.

8. Láctea Brasil. Queijo: Alimento nobre e saudável. Julho de 2006. http://www.lacteabrasil.org.br (acessado em 25/jun./2013).

9. Embrapa - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Produção, Industrialização e Comercialização (Produção), 2012. http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/producao.php. (acessado em 25/jun./2013).

10. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. http://www.anvisa.gov.br (acessado em 25/jun./ 2013).

Botucatu, São Paulo. 2009;16, n.1: 38-51.

11. World Health Organization. The role of food safety in health and development. Report of a Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Safety. World Health Organ Tech Rep Ser. 1984; 705:1-79.

12. Scheule B, Sneed J. From farm to fork: critical control points for food safety. Journal Nutrition in Recipe Menu Development. 2001; 3(2):3-27.

13. Silva MR, Rocha AS, Costa RR, Alencar AP, Oliveira VM, Júnior AAF,et al. Tuberculosis in patients co-infected wint *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* in an urban área of Brazil. Revista Memórias Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2013; 106: 321-7.

14. Starikoff, KR. Inativação de *Mycobacterium bovis* durante a cura de queijo: definição de protocolo de estudo. Tese [doutorado]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecina, Universidade de São Paulo. 2011. São Paulo.

15. Darzins E. The Bacteriology of Tuberculosis. Library of congress, University of Minnesota, United States of America 1958.

16. Drobniewski F, Strutt M, Smith G, Magee J, Flanagan P. Audit of scope and culture techniques applied to samples for the diagnosis of *Mycobacterium bovis* by hospital laboratories in England and Wales. Epidemiol Infect 2003; 130:235–237.

17. Abrahão RMCM. Tuberculose humana causada pelo *Mycobacterium bovis*: considerações gerais e importância dos reservatórios animais. Dissertação, Universidade de São Paulo, 1998.

18. Corner LA. Pos mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. Vet. Microbiol. 1994. 40; 53-63.

19. Mota TMB, Albuquerque JD, Santo AF. Micobactérias isoladas de gânglios linfáticos de bovinos, tuberculina positivos. Revista do Centro de Ciências Rurais. 2001 7 (91): 9-14.

20. BielanskI A, Algire J, Lalonde A. et al. Transmission of bovine viral diarrhea virus (BVDV) via in vitro-fertilized embryos to recipients, but not to their offspring. Theriogenology, v. 71, n. 3, p. 499-508,2009.

21. Taylor MG, Worth DR, Palmer Si, Jahans K, Hewinson GR. Rapid detection of *Mycobacterium bovis* DNA in cattle lymph nodes with visible lesions using PCR. Veterinary Research. 2007, 3:12.

22. Correa WM, Correa CNM. Tuberculose. In: Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. Rio de Janeiro, Medsi. 1992 2: 317-37.

23. Centro Panamericano de Zoonses. Metodos de laboratório de micobacteriologia veterinária para el aislamento e identificacion de micobacterias. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1973. (Seria de Monografias Cientificas y Tecnicas, C.P.Z, 6).

24. Corner LA & Nicolacopoulos C. Comparasion of media used for the primary isolation of *Mycobacterium bovis* by veterinary and medical diagnostic laboratories. Aust. Vet. J. 1988 65 (7) : 202-5.

25. Centro Panamericano de Zoonoses. Manual de normal y procediemientos técnicos para la bacteriologia de la tuberculosis III. Sensibilidad del *Mycobacterium tuberculosis* a lãs drogas. La identificación de micobactérias. Buenos Aires, 1988.

26. Anerik AI. Estudio experimental sobre el diagnóstico de la tuberculosis bovina mediante pruebas de cultivo e inuculación animal. Cienc. Vet. , Maracaibo. 1974 4: 137-200.

27. Balian SC, Pinheiro SR, Guerra JL, Morais ZM, Ferreira F, Ferreira-Neto. Estudo comparativo de dois métodos de descontaminação na pesquisa de micobactérias. Arq. Inst. Biol. 2002 69 (2): 11-14.

28. Spahr U, Schafroth K. Fate of *Mycobacterium avium paratuberculosis* in swiss hard and semihard cheese manufactured from raw milk. Applied and Environmental Microbiology, v. 67, n. 9, p. 4199-4205, 2001.

29. Harris NB, Payeur J, Bravo D, Osorio R, Stuber T, Farrell D, et al. Recovery of Mycobacterium bovis from Soft Fresh Cheese Originating in Mexico. Appl. Environ. Microbiol. 2007, 73(3):1025.

30. IEPHA. Instituto Estadual do Patrimônio Histórico e Artístico do Estado de Minas Gerais. http://www.iepha.mg.gov.br/component/content/article/16/29-processo-de-fabricacao (acessado em 23/Agosto/2013).

31. Vialta A, Moreno I, Lerayer ALS, Vieira MC, Grael ET, Barbieri MK, et al. Caracterização microbiológica, microscópica e físico-química de produtos lácticos clandestinos apreendidos no estado de São Paulo. Revista Eletrônica de Epidemiologia das Doenças Transmitidas por Alimentos, v. 3, n. 6, p. 212-216, 2003.

32. Roring S, Hughes MS, Skuce RA, Neill SD. Simultaneous detection and strain differentiation of *Mycobacterium bovis* directly from bovine tissue specimens by spoligotyping. Veterinary Microbiology. 2000 74: 227-36

33. Roxo E, Ikuno AA, Ferreira VCA, Harakava R, Ruggiero APM, Vialta A. avaliação de diferentes protocolos de extração de DNA de *Mycobacterium bovis* a partir de leite. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo. 2002 69: 46p.

34. Zanini MS, Moreira EC, Lopes MTP, Oliveira RS, Leão SC, Fioravanti RL, et al. *Mycobacterium bovis*: polymerase chain reaction identification in bovine lymph node biopsies and genotyping isolates from southeast Brazil by spoligotyping and restriction fragment length polymorphism. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2001 96 (6): 809-13.

35. World Health Organization. Global tuberculosis control. Geneva: WHO; 1997. p. 1-221.

36. Velayati AA, Farnia P, Boloorsaze MR, Sheikholslami MF, Khalilzadeh S, Hakeeme SS, et al. *Mycobacterium bovis* infection in children in the same family: transmission through inhalation. Monaldi Archives Chest Disease, 2007.

"Hoje me sinto mais forte,
Mais feliz, quem sabe,
Só levo a certeza,
De que muito pouco sei..."
Almir Sater

CONCLUSÕES GERAIS

Este estudo faz parte de um projeto base aprovado pelo Sistema Embrapa de Gestão (SEG 06.11.01.012.00.00) intitulado: "Desenvolvimento da agricultura familiar por meio da promoção e aprimoramento da agroindústria artesanal rural em territórios de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Bahia" – AGREGARTE, que tem sido desenvolvido pela Embrapa Gado de Leite, Embrapa Agroindústria de Alimentos e Embrapa Gado de Corte, com o objetivo de analisar os diversos tipos de queijos artesanais comercializados no Brasil e fatores associados a esse consumo.

Outro projeto que serviu de base de dados para análises aqui apresentadas foi o intitulado "Frequência de *Mycobacterium bovis* (tuberculose zoonótica) nos casos humanos e estudos do agente por epidemiologia analítica e molecular" aprovado pelo edital "Doenças Negligenciadas" do CNPq (Edital MCT – CNPq/MS-SCTIE-DECIT – No. 25/2006), que recebeu suporte financeiro do CNPq (processo 410595/2006-3) para sua execução.

A tuberculose zoonótica é uma doença ainda negligenciada pelas autoridades de saúde de diversos lugares do mundo, incluindo Brasil, o que leva em geral a subnotificação dos casos de tuberculose humana causada por *M. bovis*.

O consumo de leite cru ainda representa perigo à saúde pública, mostrando que a taxa de consumo e a falta de informações são fatores que predispõe um individuo a adquirir doenças transmitidas por alimentos (DTA'S). Esses fatores aliados à falta de adoção de boas práticas de produção (BPA) e de fabricação (BPF), bem como de padronização no processo de fabricação dos queijos artesanais aumentam o risco da transmissão de agentes patogênicos zoonóticos a seres humanos.

Da mesma forma o consumo de queijo feito com leite cru também oferece riscos à saúde humana. As taxas de consumo desse tipo de queijo estão associadas a hábitos culturais e de uma crença do consumidor de que produtos artesanais são mais "nutritivos".

As evidências de *M. bovis* encontradas nos queijos coalho analisados no presente estudo produz indícios da possibilidade de transmissão deste agente zoonótico de

animais infectados a seres humanos, via leite contaminado e queijo coalho processado com leite cru.

Há necessidades de políticas e programas de saúde que visem alertar e educar a população para que consumam produtos lácteos artesanais com garantia de origem e que tenham assegurados elevados padrões de qualidade e segurança.

ANEXO A

MÉTODO DE DARZINS

O método de descontaminação proposto por Darzins consiste em:

1º passo: colocar o material a ser analisado (1 mL, quando purulento; 2 a 3 mL, quando fluido) em tubos de centrifugação estéreis de fundo redondo, com capacidade de 15 mL, contendo pérolas de vidro;

2º passo: junte 5 mL de solução purificadora:

a) soda (1g);

b) fosfato trissódico (1g);

c) água destilada (100mL);

3º passo: feche os tubos e coloque no agitador de Kahn, durante 5 min;

4º passo: coloque 1mL da solução precipitadora:

a) cloreto de cálcio (0,5g);

b) água destilada (100mL);

5º passo: agite manualmente. Irá aparecer um precipitado gelatinoso. Espere 1 min;

6º passo: centrifugar por 5 min. a 2000 rpm;

7º passo: rejeite o sobrenadante, cuidando para que as pérolas fiquem no tubo;

8º passo: dissolva o precipitado com 0,3 mL da sequinte solução solvente:

a) ácido cítrico (3 g);

b) citrato de amônia (2,5 g);

c) citrato de sódio (2 g);

d) água destilada (100mL);

9º passo: semeie 100 microlitros no meio de cultura e proceda da mesma maneira como para outros métodos.