

CESAR MARQUETTI

Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais

São Paulo

2018

CESAR MARQUETTI

Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Profa. Dr. Evelise Oliveira Teles

Co-orientador:

Profa. Dr. Camila Marineli Martins

De acordo: _____

Orientador

São Paulo
2018

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3585
FMVZ

Marquetti, Cesar

Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais / Cesar Marquetti. – 2017.

66 f. il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2017.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Profa. Dra. Evelise Oliveira Telles.

Coorientador: Profa. Dra. Camila Marinelli Martins.

1. Tuberculose zoonótica. 2. Avaliação de risco. 3. Queijo Minas artesanal. 4. Leite cru 5. *Mycobacterium bovis*.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: MARQUETTI, Cesar

Título: **Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para obtenção do título Mestre em Ciências.

Data: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu avô, Prof. Dr. José Cezar Panetta, que me apresentou o mundo da Veterinária e dos alimentos e, até hoje, me graça com seu caráter e ensinamento.

Aos meus pais, Celso e Gisele, e à minha irmã Paola, que me ensinaram a viver. Pilares da minha criação e essenciais na minha vida.

A minha noiva Nathália, companheira amorosa em todas as minhas caminhadas. Sentido da minha vida e base para meu futuro.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e abençoar, permitindo que eu realizasse esse objetivo.

A Profa. Dra. Evelise Oliveira Telles, cuja excelente orientação proporcionou-me um aprendizado profissional e pessoal. Exemplo de educadora no cuidado e atenção durante a concepção deste estudo.

A Profa. Dra. Camila Marinelli Martins, pelo apoio e orientação, compartilhando as preocupações e aspirações na construção da pesquisa científica.

Ao Prof. Fernando Ferreira, pelo competente apoio e colaboração.

Aos Professores do Departamento de Epidemiologia Experimental aplicada às Zoonoses, no qual desenvolveu-se o presente trabalho.

Aos Professores da Universidade Metodista de São Paulo, responsáveis pela minha graduação e aos Professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, FMVZ-USP, que permitiram desenvolver minhas potencialidades e participar da Pós-Graduação.

Resumo

MARQUETTI, C. **Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais.** [Quantitative model to estimating the risk of production of artisanal Minas chesse contaminated with *Mycobacterium bovis* on positive farm for bovine tuberculosis in the state of Minas Gerais. 2018. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O cenário Brasileiro é propício para a ocorrência de casos humanos de tuberculose zoonótica, já que a tuberculose bovina ocorre em todo o território e há um importante mercado de queijos produzidos com leite cru, como o queijo minas artesanal. Assim, propôs-se um modelo quantitativo para estimar a probabilidade do produtor artesanal de queijo minas produzir o queijo contaminado com *Mycobacterium bovis*, se a unidade produtora possuir animais infectados. A fonte dos dados de entrada no modelo (representados por distribuições probabilísticas, sempre que possível) foram: legislação, livros, artigos científicos obtidos por revisão sistemática nas bases de dados (*Scopus, Abstract, Scielo, PubMed, Science Direct and Web of Science*). Características de produção de uma propriedade foram estabelecidas para compor o contexto do modelo. A simulação de Monte Carlo foi empregada para integrar os dados e avaliar o risco de propriedades-tipo ter pelo menos uma vaca produzindo leite contaminado com *M. bovis*. . Adicionalmente, admitindo que esse leite contaminado (e sem prévia pasteurização) seja utilizado na fabricação de queijo tipo minas meia cura, foi calculada a menor porção de queijo contaminada com uma dose infectante, em cinco cenários, variando o número de animais doentes e eliminando o *M. bovis*. no leite, a carga de *M. bovis*. eliminada no leite e a dose infectante. Nas condições do estudo, a probabilidade da propriedade produzir leite contaminado pelo agente foi de 5,8% e a porção mínima de queijo que conteria a dose infectante de *M. bovis*. variou, de miligramas a quilos, nos cenários delineados, sugerindo que o risco à saúde pública pode ser significativo. Esses resultados evidenciam a necessidade de estudos que caracterizem as propriedades que fabricam este queijo no Estado e, para que a inferência do risco possa ser mais precisa, a ciência deverá prover dados que reduzam as incertezas de alguns parâmetros do modelo."

Palavras-chaves: Avaliação de risco. Leite cru. *Mycobacterium bovis*. Queijo Minas artesanal. Tuberculose zoonótica.

Abstract

MARQUETTI, C. **Quantitative model to estimating the risk of production of artisanal Minas chesse contaminated with *Mycobacterium bovis* on positive farm for bovine tuberculosis in the state of Minas Gerais.** Modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais. 2018. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The Brazilian scenario is conducive to the occurrence of human cases of zoonotic tuberculosis, since bovine tuberculosis occurs throughout the territory and there is an important market for cheeses produced with raw milk, such as artisanal mines. Thus, a quantitative model was proposed to estimate a probability of the artisanal producer of Minas Cheese producing the cheese contaminated with *Mycobacterium bovis* if the producing unit had infected animals. The source of the input data in the model (represented by probabilistic distributions, always possible, were: legislation, books, scientific articles obtained by systematic review in the databases (Scopus, Abstract, Scielo, PubMed, Science Direct and Web of Science). The production characteristics of a property were established to compose the context of the model. The Monte Carlo simulation was used to integrate the data and to evaluate the risk of type properties to have at least one cow producing milk contaminated with *M. bovis*. Additionally, assuming this contaminated milk (and without previous pasteurization) is used in the manufacture of half-cure Minas Cheese, the lowest portion of cheese contaminated with an infecting dose was calculated in five scenarios, varying the number of diseased animals and eliminating the *M. bovis*. in milk, the *M. bovis*. load eliminated in the milk and the infecting dose. Under the study conditions, the likelihood of the property producing milk contaminated by the agent was 5.8% and the minimum portion of cheese containing the infective dose of *M. bovis*. ranged from milligrams to kilos in the outlined scenarios, suggesting that the risk to public health can be significant. These results evidenced the need for studies that characterize the properties that make this cheese in the State and, in order that the risk inference can be more precise, the science should provide data that reduce the uncertainties of some parameters of the model

Keywords: Tuberculosis zoonotic. Raw Milk. Risk assessment. *Mycobacterium bovis*. Minas artisanal cheese.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - mapa do estado de Minas Gerais com as identificações das microrregiões.....	16
Figura 2 - Cadeia de eventos que leva à produção de queijo minas artesanal contaminado por <i>Mycobacterium bovis</i>	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores médios, e as respectivas unidades de expressão, encontrados para os parâmetros pesquisados nos 5 cenários estudados.....	48
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Contaminação final do leite (Cenário 1).....	39
Gráfico 2 - Contaminação final do queijo (Cenário 1).....	40
Gráfico 3 - Quantidade de queijo (kg) a ser consumida para ingestão da dose infectante (Cenário 1).....	40
Gráfico 4 - Contaminação final do leite (Cenário 2).....	41
Gráfico 5 - Contaminação final do queijo (Cenário 2).....	42
Gráfico 6 - Quantidade de queijo (kg) a ser consumida para ingestão da dose infectante (Cenário 2).....	42
Gráfico 7 - Quantidade de queijo (kg) a ser consumida para ingestão da dose infectante (Cenário 3).....	43
Gráfico 8 - Contaminação final do leite (Cenário 4).....	44
Gráfico 9 - Contaminação final do queijo (Cenário 4).....	45
Gráfico 10 - Quantidade de queijo (kg) a ser consumida para ingestão da dose infectante (Cenário 4).....	45
Gráfico 11 -Total de UFC produzido por propriedade (Cenário 5)	46
Gráfico 12 - Contaminação final do leite (Cenário 5)	47
Gráfico 13 -Contaminação final do queijo (Cenário 5).....	47
Gráfico 14 - Quantidade de queijo (kg) a ser consumida para ingestão da dose infectante (Cenário 5).....	48

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Símbolos utilizados nas estimativas do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por <i>M. bovis</i>	30
Quadro 2 – Resumo dos cenários criados e relação com as respectivas variáveis aplicadas.....	33
Quadro 3 - Artigos encontrados durante processo de revisão sistemática	35
Quadro 4 - Cálculos realizados sequencialmente em todos os cenários, dados os parâmetros estabelecidos.....	38

SUMÁRIO

1. Introdução.....	15
2. Revisão de literatura.....	19
3. Objetivo geral.....	26
4. Objetivo específico.....	26
5. Material e Métodos.....	27
6. Resultados e Discussão.....	34
6.1. Cenário 1.....	39
6.2. Cenário 2.....	41
6.3. Cenário 3.....	43
6.4. Cenário 4.....	44
6.5. Cenário 5.....	4
7. Conclusão.....	52
8. Referências.....	53
9. Anexos.....	59

Introdução

A Avaliação de Risco, componente científico central da Análise de Risco, é uma das formas para estimar uma potencial infecção decorrente da exposição de uma população a um perigo. As 4 etapas que compõem a Avaliação de Risco são: a) Identificação do Perigo: identifica-se um agente capaz de causar efeito adverso à saúde que pode estar presente em um determinado alimento (OPAS, 2006); b) Caracterização do Perigo: é a elaboração de um perfil da natureza e da extensão do efeito adverso à saúde; quando possível, deve-se estabelecer a relação dose-resposta para diferentes níveis de exposição ao perigo e a probabilidade da ocorrência de diferentes efeitos nocivos (OPAS, 2008); c) Avaliação da Exposição: indica a quantidade do perigo a que uma população pode estar exposta; é estimada através dos níveis de perigo nas matérias-primas e outros ingredientes e as alterações na carga contaminante ao longo do processo ou da cadeia produtiva (OPAS, 2008); d) Caracterização do Risco: é a integração dos resultados anteriores para gerar uma estimativa quantitativa da probabilidade da ocorrência e da gravidade da doença na população definida; deve incluir e descrever as limitações da avaliação, as incertezas que surgiram no processo e a variabilidade dos elementos, para a estimação da confiabilidade do estudo (OPAS, 2006).

Mycobacterium bovis é o agente causador da tuberculose bovina, doença zoonótica que tem no leite sua principal via de transmissão para o homem, no qual a doença é indistinguível da causada pelo *M. tuberculosis*. As principais medidas de controle da transmissão zoonótica são o controle/erradicação da doença no rebanho bovino e a pasteurização do leite. No entanto, apesar de o Brasil envia esforços para o controle, a doença ainda afeta o rebanho bovino em todo o território nacional (BRASIL, 2006), com situação heterogênea entre os estados. São Paulo apresenta prevalência aparente de 9% de propriedades positivas para tuberculose bovina [intervalo de confiança 95%, IC 95%: 7,8 – 10,5%] e 1,3% [95% IC=0,9 – 1,7%), para animais positivos para tuberculose bovina (DIAS et al., 2016); Rio Grande do Sul 2,8% [1,8 – 4,0] para rebanhos infectados no estado e prevalência animal de 0,7% [0,4 – 1], (QUEIROZ et al., 2016); Distrito Federal 0,36% [IC 95%: 0,0 – 2,0%] e 0,05%

[95%: IC 0,0 – 0,4] referente à prevalência no estado e animal, respectivamente (RIBEIRO et al., 2016); Mato Grosso do Sul 1,3% [IC 0,72; 2,37%] para prevalência de propriedades positivas no estado e 0,035% [95%: 0,017 – 0,069%] para prevalência de animais positivos (GUEDES et al., 2016); Minas Gerais 4,25% [IC 95%: 3,36 – 5,15] e 0,56% [95%: 0,46 – 0,66] para a prevalência no estado e animal, respectivamente (BARBIERI et al., 2016).

O leite cru é utilizado na fabricação de vários queijos no país. O queijo minas artesanal possui grande valor socioeconômico para o estado de Minas Gerais, além de ter carácter cultural, sendo considerado “patrimônio dos mineiros” (IMA, 2017). Por todas as regiões mineiras evidencia-se a presença da agricultura familiar, fortemente atrelada à atividade leiteira com produções heterogêneas de produtos que utilizam o leite cru como matéria-prima.

Independentemente dos avanços tecnológicos nos setores correlatos (setores primários por exemplo), a produção artesanal de queijo permanece estável, por se tratar de uma cultura local e antiga, onde via-se a fabricação do queijo como uma alternativa segura de renda e de sobrevivência (EMATER, 2016). Por tal importância e outros fatores associados, o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) normatizou a produção artesanal de queijo no estado (Minas Gerais, 2006) promovendo a identidade dos produtos em questão, reconhecendo sete regiões tradicionais (figura 1): Araxá, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro, Campos das Vertentes e Triângulo Mineiro. Por terem registro no serviço do estado, as queijarias só podiam comercializar os produtos dentro do próprio estado, no entanto com a adesão do IMA ao Sistema Brasileiro de Inspeção de Produto de Origem Animal - SISBI/POA, (MINAS GERAIS, 2014), torna-se a comercialização em todo território nacional (desde que haja solicitação da propriedade produtora).

Figura 1 - mapa do estado de Minas Gerais com as identificações das microrregiões.



Estima-se que haja cerca de 30 mil produtores deste queijo em Minas Gerais, dos quais 9 mil se localizam nas 7 regiões reconhecidas e têm uma produção estimada em 50 mil toneladas por ano (EMATER-MG, 2017). Apenas na região da Canastra, onde o Queijo Minas Artesanal Canastra predomina, o volume de produção anual é estimado em 4.470 toneladas (EMATER, 2016).

A legislação federal permite o uso do leite cru se o queijo for curado por 60 dias ou mais em temperatura superior a 5°C (BRASIL, 1996), mas legislações estaduais permitem-no na fabricação de queijos com cura curta, como é o caso do queijo minas artesanal (MINAS GERAIS, 2012), para o qual estabelece-se o período mínimo de maturação de dezessete (17) dias para a microrregião do Serro e mínimo de vinte e dois (22) dias para as microrregiões da Canastra, Cerrado, Araxá e de Campos Vertentes (MINAS GERAIS, 2013).

Vale ressaltar que, mesmo estabelecido nas legislações vigentes, não há convicção científica sobre o efeito da cura de queijos na morte de patógenos, de forma a garantir a segurança do produto. No entanto, é razoável supor que a taxa de morte dependerá de vários fatores como processo de fabricação, pH, atividade de água e concentração de sal do queijo, interação microbiana, temperatura e tempo de cura.

À parte as incertezas referentes à sobrevivência de *M. bovis*. à cura do queijo, há que se considerar o consumo de queijos artesanais frescos, que não estão sujeitos a esse tratamento.

Minas Gerais é o estado maior produtor de leite do país, o que, proporcionalmente, aumenta o nível de exposição da população a eventuais contaminantes. Dos 35,2 bilhões de litros produzidos em 2014, o estado mineiro representou 26,6% da produção nacional, com 9,3 bilhões de litros, liderando o ranking de produção. Em segundo colocado encontra-se o Rio Grande do Sul, representando 13,3% da produção nacional, com 4,7 bilhões de litros (IBGE, 2015).

Tendo em vista a endemicidade da tuberculose bovina em Minas Gerais, a excreção de *M. bovis*. pelo leite, o uso de leite cru na fabricação do queijo minas artesanal, o volume de produção e de consumo deste produto, fica evidente que o cenário é propício para ocorrência de casos humanos de tuberculose zoonótica pelo consumo deste produto. Assim, o objetivo deste estudo foi propor um modelo

quantitativo para estudar o risco associado ao consumo do produto, sem a pretensão de obter estimativas definitivas. Pretende-se, com isso, auxiliar a análise do problema e identificar lacunas de conhecimento para orientar estudos futuros que possam melhorar as estimativas e, eventualmente, orientar políticas públicas para redução do risco, se necessário. Considera-se que de fato há um mercado importante de queijo minas artesanal que provavelmente usa leite cru, criando um cenário propício para ocorrência de casos humanos de tuberculose por *M. bovis*.

Revisão de Literatura

A tuberculose causada pelo *Mycobacterium bovis* é uma zoonose de evolução crônica, caracterizando-se pelo desenvolvimento progressivo de lesões nodulares denominadas tubérculos, os quais podem localizar-se em qualquer órgão ou tecido (BRASIL, 2006)

As bactérias causadoras da tuberculose pertencem à família *Mycobacteriaceae*, gênero *Mycobacterium*, classificam-se por serem bastonetes curtos, imóveis com aspecto granular. O *M. bovis*. é um bastonete microaerófilo desprovido de motilidade, esporos ou cápsulas. Possui um alto teor de lipídeos, cuja concentração atinge até 40% do peso seco das células e 60% da parede celular, motivo pelo qual tem crescimento relativamente lento. Mede 1,5 a 4,0 μ de comprimento por 0,2 a 0,6 μ de largura e álcool-ácido resistente – BAAR (ROSEMBERGER, 1983; MOTA e NAKAJIMA, 1992).

A hidrofobicidade dos lipídeos presentes em alta concentração na parede celular tem alta importância na resistência à desidratação, sendo fator fundamental para a sobrevivência do organismo em condições adversas. Michael et al. (2012) verificaram a longevidade do *M. bovis*. em leite cru e tradicional, baseado no binômio tempo x temperatura. Quando o leite foi armazenado em temperatura de 20°C, sobreviveu por 14 dias na concentração de 10⁷ UFC / ml. Na mesma temperatura, porém em concentração menor, 10⁴ UFC / ml e 10² UFC / ml, manteve-se viável por 8 e 5 dias, respectivamente. Por fim, quando armazenado a 33°C, o *M. bovis*. permaneceu viável em todas as concentrações por até 3 dias.

O pH também é fundamental para determinar a sobrevivência da micobactéria e entende-se que a mesma possui uma alta capacidade de adequação do pH interno quando exposta à diferentes meios. A faixa ideal de crescimento é em torno de 5,8 a 6,7 (VANDAL et al., 2009) porém Rao et al. (2001) realizaram um estudo que avaliou a capacidade de regulação do *M. bovis*. frente aos diferentes pH externos; identificaram a capacidade do agente manter-se viável em uma variação de pH entre 2,1 e 2,3.

O *M. bovis*. é resistente ao ambiente (SINHA, 1996) e tem crescimento lento em meios de cultivo em condições ideais (FDA, 2012) e por isso é provável que a

temperatura e tempo de conservação do leite cru preserve o agente, mas não permita a sua multiplicação (ROWE e DONAGHY, 2008) e é possível também que as bactérias autóctones do leite exerçam atividade inibitória sobre o *M. bovis.*, como ocorre com outros patógenos (CORDANO e ROCOURT, 2001; KONGO et al., 2008).

Além de participar da etiologia da tuberculose humana, então chamada de tuberculose zoonótica, o *M. bovis.* tem um amplo espectro de patogenicidade para as espécies domésticas e silvestres, principalmente para bovinos e bubalinos. Para o rebanho, a principal fonte de infecção é o bovino ou bubalino infectados, porém outras espécies podem assumir papel importante como reservatório do *M. bovis.*, e, eventualmente, introduzir ou reintroduzir a doença em rebanhos bovinos. O próprio homem positivo para tuberculose causada pelo referido agente pode ser fonte de infecção para os rebanhos (BRASIL, 2006).

A tuberculose humana causada pelo *M. bovis.* é indistinguível em relação à patogênese, lesões, achados clínicos da tuberculose causada pelo *M. tuberculosis.* No homem, a tuberculose primária que ocorre durante a primo-infecção podendo evoluir tanto a partir do foco pulmonar quanto do foco ganglionar ou então em consequência da disseminação linfohematogênica (BRASIL, 2006).

A doença causada pelo *M. tuberculosis* é caracterizada pelo desenvolvimento progressivo de tubérculos no organismo na maioria das espécies, incluindo o homem. A tuberculose se espalha no corpo do infectado em dois estágios, complexo primário e disseminação pós-primária. O primeiro consiste em lesões na porta de entrada e nos linfonodos locais. Quando a infecção ocorre pela rota oral, a lesão na porta de entrada é incomum, sendo que as únicas lesões observadas são na faringe e nos linfonodos mesentéricos. Um foco visível primário ocorre com oito dias após a infecção bacteriana iniciar, sendo que a calcificação das lesões ocorre após duas semanas. O desenvolvimento de focos necróticos é cercado por tecido de granulação e infecção dos linfonodos, estabilizando, sequencialmente, o tubérculo patognomônico. O segundo estágio consiste na disseminação pós-primária, a qual pode variar de acordo com a rota. Caso caracterize-se pela tuberculose aguda, ocorrem discretas lesões nodulares em vários órgãos, porém na forma crônica da doença ocorrem reinfecções endógenas ou exógenas, através dos tecidos que se tornaram alérgico à proteína presente no tubérculo (BLOOD et al., 2000; SINHA, 1994).

A infecção humana via oral geralmente causa lesões nodulares cervicais e mesentéricas, que podem evoluir para outras formas de doença não pulmonar. Febre, calafrios, tosse, perda de peso, dor abdominal, diarreia ou constipação podem demorar meses ou anos para serem notados; podem aparecer apenas após a reativação de uma infecção antiga (BRASIL, 2006) e também pode ocorrer recidiva em pacientes clinicamente curados (OLIVEIRA e FILHO, 2000).

A via de eliminação de um animal infectado com o *M. bovis*. é pelo ar expirado (oriundos do pulmão ou dos gases ruminais), pelo leite, urina, fezes, secreções vaginais devido ao acometimento dos linfonodos periféricos e do útero, e outros fluidos corporais, dependendo dos órgãos afetados. A principal porta de entrada é a via respiratória (80 a 90% dos casos ocorre pela inalação de aerossóis contaminados com o micro-organismo), porém o trato digestivo também viabiliza a entrada do agente para a tuberculose bovina, principalmente através da ingestão de leite proveniente de vacas com mastite tuberculosa e em animais que ingerem forragens ou água contaminada. Nesta situação, o complexo primário irá se localizar nos órgãos digestivos e linfonodos regionais (CORREA, 1979; SINHA, 1994).

A dose infectante do *M. bovis*. é desconhecida para humanos, mas sugere-se que a dose deva ser entre dezenas e milhões de unidades formadoras de colônias (FDA, 2012). Também é desconhecida a dose infectante do grupo de risco, porém deve ser a mesma da população geral ou consideravelmente menor (FSA, 2011).

Não existem documentos que comprovem a diferença de dose infectante nas diversas rotas, porém entende-se que a rota oral requer 10^3 a 10^6 UFC a mais do que a infecção pela rota aérea. Por exemplo, infecções pulmonares cobaios requerem 1 a 62 UFC, enquanto infecções pela rota oral requerem de 10^7 a 10^8 UFC (FSA, 2011).

Dados sobre a prevalência da infecção humana por *M. bovis*. são raros e controversos (THOEN et al., 2006); isso se deve, em parte, ao fato do tratamento ser o mesmo para a doença causada pelo *M. tuberculosis* ou *M. bovis*. Também faltam dados precisos sobre dose resposta em humanos contaminados por *M. bovis*. Estima-se que a dose infecciosa humana pela via oral/gastrointestinal seja por volta de milhares de organismos contra centenas de micobactérias pela via respiratória (FDA, 2012; FSA, 2011).

O fundamento do controle da tuberculose dá-se pelo bloqueio de pontos críticos da cadeia de transmissão da doença. O conhecimento da situação sanitária do rebanho é o passo inicial do processo, identificando as fontes, além da importância da saúde dos trabalhadores, instalações adequadas e não utilização do leite de vacas reagentes (BRASIL, 2006).

O risco da tuberculose humana de origem bovina é maior para crianças, idosos e pessoas com deficiência imunológica. O homem adquire a doença através da ingestão de leite e derivados procedentes de vacas infectadas (BRASIL, 2006).

O risco de presença do *M. bovis*. no leite cru é real e perigoso para o consumidor. O leite de uma única vaca contaminada pode infectar todo o leite da propriedade ou até mesmo o leite de outras fazendas, as quais podem, inclusive, distribuir a matéria-prima para um laticínio (SINHA, 1994).

Considera-se como queijo minas artesanal, segundo a Lei Estadual nº14.185 (MINAS GERAIS, 2002)

aquele confeccionado conforme tradição histórica e cultural da região do Estado onde for produzido, a partir do leite integral de vaca, fresco e cru, retirado e beneficiado na propriedade de origem, que apresente consistência firme, cor e sabor próprios, massa uniforme, isento de corantes e conservantes, com ou sem olhaduras mecânicas.

O modo artesanal de fabricação do queijo foi registrado como patrimônio cultural imaterial brasileiro pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (BRASIL, 2014). Ao todo são cerca de 30 mil produtores de queijo minas artesanal, dos quais 9 mil estão distribuídos nas sete regiões tradicionais e reconhecidas. Estima-se um volume de produção anual de 50 mil toneladas para essas regiões (EMATER-MG, 2017).

Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo - ABIQ, a categoria de queijos vem crescendo anualmente, principalmente sustentada pelo aumento de renda da população. O cenário e a perspectiva são positivos, o consumo de queijo minas artesanal aumentou 43% de 2008 a 2014, de 3,5 kg *per capita* / ano para 5 kg *per capita* / ano. A projeção é que, levando-se em conta o crescimento de 6 % na produção de queijo e o aumento da população, o consumo passe a ser 7,3 kg de queijo por habitante em 2020.

Há pouca informação sobre a sobrevivência do *M. bovis*. nos produtos derivados de leite cru, mas devido a acidificação do leite que ocorre pelas bactérias ácido-láticas controlar o crescimento de agentes patógenos (NORTHOLT 1983) é pouco provável que o agente seja capaz de se multiplicar nesse meio (Reino Unido, 2011) Kastli & Binz, 1994, realizaram um estudo para verificar a sobrevivência e viabilidade do *Mycobacterium tuberculosis* nos diferentes tipos de queijo. No queijo Cheddar o *M. bovis*. pode permanecer viável por 60 a 200 dias, dependendo da concentração inicial do agente no leite utilizado como matéria-prima. O queijo *Emmental* foi particularmente muito abordado no estudo. Demonstraram que o método de produção tem um impacto considerável na sobrevivência a longo prazo do *M. bovis*., provavelmente devido ao processo de escaldagem, no qual a coalhada é aquecida a 53°C por 30 a 40 minutos, o que pode reduzir a habilidade do organismo para sobreviver ao período de maturação do queijo.

Para melhorar o conhecimento sobre a sobrevivência do *M. bovis*. no queijo, a *Food Standards Agency*, FSA, realizou uma pesquisa no Reino Unido, sobre a produção de queijo oriundos do leite cru. Especificamente, a pesquisa centrou-se em dois tipos de queijo, *Caerphilly* e *Cheddar*, representando as categorias de queijos do tipo semi-duro e duro, com longos períodos de maturação. Verificou-se que o nível de contaminação de *M. bovis*. no leite a granel não pasteurizado utilizado na produção de derivados de leite cru é de 10 UFC/ml, sendo provável que haja pelo menos a redução de 1 log₁₀ em números de bactérias em queijos como o *Cheddar* e *Caerphilly*, no processo de soragem e maturação, após perda de 1 UFC/ml.

O agente pode sofrer interferências durante o processo de fabricação do queijo minas artesanal; um estudo realizado por Starikoff et al. (2016), em queijo parmesão fabricado em laboratório, demonstrou que houve uma redução na concentração de *M. bovis*. de 9,83%, reduzindo de 6,1 para 5,5 UFC/ml. Ao encontro, Sinha (1994) relata que durante a etapa de transformação do leite em queijo ocorre a redução de 1 log₁₀ UFC.

Não há evidências concretas sobre a sobrevivência do agente após quaisquer processos de cocção (SINHA, 1994). Um estudo realizado por Lienistea et al., 1964, comprova que o *M. bovis*. manteve-se viável em amostras de manteiga armazenadas

em 4° a 6°C, durante 91 dias, provenientes de cremes inoculados, propositalmente, com 150 e 1500 UFC/g ou ml.

Guindi et al. (1983) avaliaram 1300 amostras de leite, das quais 22 resultaram positivas para o tipo bovino de bacilo tuberculoso e 6 para presença do *M. bovis*. Para o leite a granel analisado, das 24 amostradas infectadas, 14 continham o *M. bovis*.

Como principal medida de prevenção da tuberculose zoonótica através da ingestão de leite, têm-se o controle sanitário de produtos de origem animal e a pasteurização ou esterilização do produto e derivados, o que diminuem o risco de transmissão do *M. bovis*. (BRASIL, 2006).

Para o funcionamento legal de qualquer estabelecimento de manipulação/industrialização de alimentos, necessita-se de um registro no órgão fiscal correspondente (SÃO PAULO, sd). A Lei Federal N°7.889, de 23 de novembro de 1989, atribui aos estados e municípios a competência pela inspeção higienicossanitária e tecnológica de produtos e subprodutos de origem animal.

O registro das indústrias no Serviço de Inspeção restringe e determina o âmbito de comercialização permitido. Para o Serviço de Inspeção Federal (SIF), os estabelecimentos comerciais podem comercializar entre estados e para fora do país. O Serviço de Inspeção Estadual (SIE) possibilita a prática de comércio dos produtos no território do estado em questão, enquanto que o Serviço de Inspeção Municipal é restritivo somente ao próprio município que a indústria está sediada (BRASIL, 1889).

Em paralelo, o Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal – SISBI/POA, que faz parte do Sistema Unificado de Atenção a Sanidade Agropecuária – SUASA (regulamentado pelo Decreto n° 5741/2006), define e padroniza os procedimentos de inspeção de produtos de origem animal. Os Estados, Distrito Municipal e Federal podem solicitar a equivalência dos seus serviços de inspeção com o Serviço Coordenador do SISBI, possibilitando a comercialização dos produtos além das fronteiras estaduais.

A revisão sistemática propõe uma reconstrução do percurso metodológico e conceitual na escolha das fontes bibliográficas, baseando-se em procedimentos rigorosos e explícitos para que os resultados não sejam incompletos, ineficientes ou sem validade científica (CONTANDRIOPOULUS et al., 2010). Esse tipo de investigação disponibiliza uma síntese das evidências atreladas à uma estratégia

específica de intervenção, sendo construída para ser metódica, explícita e passível de reprodução. Segundo Linde, 2003, as revisões sistemáticas são úteis para integrar as informações de um conjunto de estudos realizados separadamente, que podem apresentar resultados conflitantes, coincidentes ou identificando temas que necessitam ser evidenciados.

Ao ter um resumo de todos os estudos sobre determinada intervenção, a revisão sistemática permite incorporar um espectro maior de resultados relevantes, não limitando a conclusão baseando-se exclusivamente à leitura de alguns poucos. Evidentemente que a qualidade da revisão sistemática está diretamente associada à qualidade das fontes primárias de dados, por se tratar de um processo secundário. A revisão é usualmente conduzida após a publicação de vários estudos experimentais sobre o tema em questão (SAMPAIO & MANCINI, 2007). Os resultados podem ser expostos na forma de conclusão, análise ou síntese, uma vez que a mesma pode estar ancorada em processos quantitativos ou qualitativos, dependendo do objetivo da pesquisa. (GUANILO et al., 2011)

Objetivo geral

Desenvolver um modelo quantitativo para estimação do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *M. bovis* em propriedade positiva para tuberculose bovina no estado de Minas Gerais.

Objetivos específicos

- Estimar o nível de contaminação no leite produzido na propriedade;
- Estimar o nível de contaminação no queijo fresco fabricado, caso o leite da propriedade esteja contaminado;
- Estimar o volume de queijo que deve ser consumido para que haja a ingestão de 1 dose infectante;

Material e Métodos

A busca de dados foi realizada pelo método de Revisão Sistemática Qualitativa, buscando os artigos científicos nas bases de dados disponíveis (*Scopus, Abastract, Science Direct Elsevier, Scielo, PubMed e Web of Science*), sem restrição de época de publicação, legislações e dados oficiais, além de livros sobre o tema.

Dez parâmetros prévios foram considerados essenciais para os objetivos do modelo e, portanto, pesquisados com as seguintes palavras chaves, na língua inglesa: frequência de eliminação e carga eliminada do *M. bovis*. no leite (*Mycobacterium bovis, Milk, Elimination e Mycobacterium bovis, Milk, Concentration*), sobrevivência e temperatura de multiplicação do agente no leite (*Survival, Mycobacterium bovis, Milk e Mycobacterium bovis, Growth Temperature*), dose infectante animal (*Mycobacterium bovis, Infecting dose, Animal*) e humana (*Mycobacterium bovis, Infecting dose, Human*), bacteriocinas (*Mycobacterium bovis, Milk, Lactic acid bacteria*), pH ideal para crescimento (pH, *Mycobacterium bovis, Milk; Growth*) e pH de sobrevivência da micobactéria (pH, *Mycobacterium bovis, Milk; Survival*) e, por fim, alteração da carga do *Mycobacterium bovis* pela transformação do leite em queijo (*Mycobacterium bovis; Cheese maturation e Microbial death*). Posteriormente, mais três palavras chaves foram pesquisadas: *Risk, Mycobacterium bovis; Milk*.

O gerenciamento de todas as referências encontradas foi realizado através do software comercial Mendeley®. Os critérios de inclusão empregados para selecionar os artigos de interesse foram padronizados, baseados na necessidade de conter especificamente o parâmetro pesquisado. As seguintes etapas foram empregadas para aplicação dos critérios: 1. Exclusão de duplicatas, 2. Triagem pelo título, 3. Triagem pelos resumos e 4. Leitura integral dos artigos remanescentes. Durante a triagem de título e resumo procurou-se checar se contemplavam as palavras-chaves utilizadas e a pertinência do tema dado o parâmetro em questão.

Os critérios de exclusão após a leitura integral foram: para o parâmetro “frequência de eliminação do *M. bovis*. no leite”, eliminação do agente em outro meio que não fosse o leite ou por outra espécie e ausência de informação referente à frequência de eliminação; para o parâmetro “carga de *M. bovis*. eliminada no leite”, a falta de informação sobre a concentração eliminada, seja por citação ou análise; para

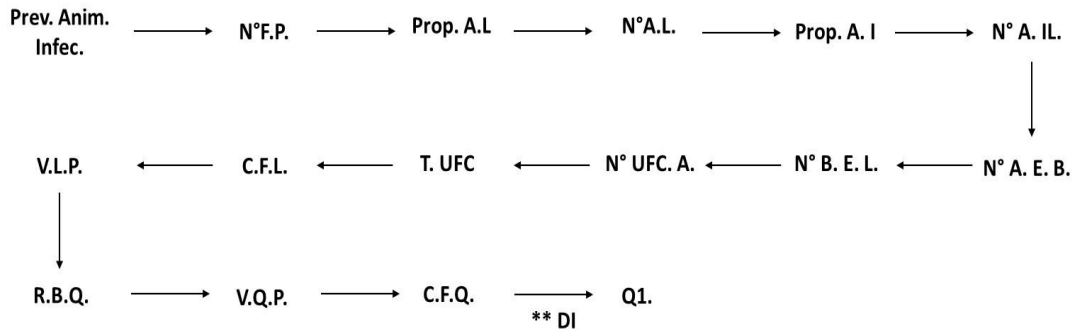
o parâmetro “sobrevivência do *M. bovis.* no leite” e “temperatura de multiplicação do *M. bovis.* no leite” o motivo de exclusão seria a referência em outros meios que não fosse o leite. Ainda sobre as exclusões de artigos, para o parâmetro dose infectante animal, os que abordassem dose infectante em viabilidade com a vacina BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) ou pela identificação das infecções por *M. bovis.*, porém sem citação específica da dose; para o parâmetro “bacteriocinas”, os que não abordassem ação sobre o *M. bovis.* ou que não estivesse relacionado com a ação das bactérias no queijo; para o parâmetro “pH ideal para crescimento do *M. bovis.*” e “pH de sobrevivência do *M. bovis.*”, os que abordassem diferentes meios ou analisar a capacidade de adaptação do pH interno do agente frente ao pH externo; por fim, para o parâmetro “alteração da carga de *M. bovis.* pela transformação do leite em queijo,” os que não abordassem quantitativamente a carga, apenas discussão sobre o tema.

O processo de revisão sistemática foi registrado usando o fluxograma Prisma (*Preferred Report Items for Systematic review and Meta-Analyses*), os quais foram apresentados no Anexo.

Para a existência do risco do queijo conter *M. bovis.*, a premissa inicial do estudo foi que a propriedade tivesse animais positivos para tuberculose e, assim, a cadeia de eventos (Fig. 1) considerada foi: frequência de animais infectados (Prev. Anim. Infec), número de fêmeas na propriedade (N°F.P), número de fêmeas em lactação (N°A.L.), volume de leite produzido por animal (V.L.A.), número de bactérias eliminadas no leite (N°UFC.A), proporção de animais infectados que eliminam a bactéria (Prop. A.I.), volume de leite produzido na propriedade (V.L.P.), redução de bactérias no queijo devido à transformação do leite em queijo – perda no soro (R.B.Q.), volume de queijo produzido na propriedade (V.Q.P.), total de UFC produzidas por propriedade (T.UFC), contaminação final do leite (C.F.L.), contaminação final do queijo (C.F.Q.) e a quantidade de queijo minas artesanal a ser consumida para ingestão de, pelo menos, a dose infectante (Q1).

Não foram consideradas outras vias de contaminação do leite pelo *M. bovis.*, como fezes ou urina.

Figura 2 - Cadeia dos eventos que leva a produção de queijo minas artesanal contaminado por *Mycobacterium bovis*, assumindo uma propriedade positiva para tuberculose.



FONTE: Cesar Marquetti, 2017.

A prevalência de animais infectados (Prev. Anim. Infec.) foi estimada a partir dos dados gerados no estudo que avaliou a situação epidemiológica da tuberculose bovina no estado de Minas Gerais (BARBIERI et al., 2016). Para o estudo, o estado foi dividido em 7 estratos, representando as 7 regiões, nos quais foram analisados vários fatores de risco para a ocorrência da tuberculose, incluindo: a caracterização do processo de criação, condições sanitárias, e outros fatores importantes reportados na literatura.

Os fatores de risco selecionados para compor a propriedade-perfil da presente pesquisa foram: 30 vacas no máximo, exploração leiteira ou mista, mínimo 1 ordenha por dia, produz laticínio na propriedade (utilizadas para extrair a prevalência do banco de dados), 80% das vacas em lactação, produção média de 20 litros por dia por vaca.

Para calcular a prevalência aparente dentro de cada estrato, relacionou-se os rebanhos com gados positivos para tuberculose bovina com o número total de rebanhos amostrados. Para calcular a prevalência da tuberculose bovina entre animais, a ponderação foi realizada em duas etapas: a primeira razão determinou o peso (estatístico) de cada animal dentro do rebanho amostrado e a segunda resultou no peso de cada animal dentro do estrato. Decidiu-se utilizar o pior cenário e, portanto, a maior prevalência obtida.

Os parâmetros “número de bactéria eliminadas por litro de leite” representado no quadro 01 como “N°.UFC.A.”, “proporção de animais infectados que eliminam a bactéria” (Prop. A.I.), “redução de bactéria durante a transformação do leite em queijo”

(R.B.Q..) e “dose infectante humana” (DI) foram oriundos da revisão sistemática qualitativa empregada.

As etapas de Avaliação da Exposição e Caracterização do Risco foram realizadas integrando-se os dados obtidos através de uma estimativa probabilística de propagação do risco pela versão *trial* do software @RISK 7.5 for Excel Launcher (Palisade Corporation, NY).

Para facilitar a exposição didática do estudo, em paralelo as siglas utilizadas na cadeia de eventos (figura 01) geraram-se as siglas apresentadas no Quadro 1, utilizados nos cálculos em sequência.

Quadro 01: siglas utilizadas nas estimativas do risco de produção de queijo minas artesanal contaminado por *M. bovis*.

Cadeia de Eventos	SIGLA
Prevalência de animais infectados em propriedade positivas	Prev. Anim. Infect.
Volume de leite produzido por animal	V.L.A.
Número de fêmeas na propriedade	N° F.P.
Número de animais em lactação	N°A.L.
Número de animais infectados em lactação	N°A.I.L.
Número de bactérias eliminadas no leite	N°B.E.L.
Número de animais em lactação eliminando a bactéria	N°A.E.B.
Proporção de animais em lactação	Prop. A.I.
Proporção de animais infectados que eliminam a bactéria	Prop. A.L.
Volume de leite produzido na propriedade	V.L.P.
Redução de bactérias devido à transformação leite em queijo	R.B.Q.
Volume que queijo produzido na propriedade	V.Q.P.
Número de UFC produzidas por animal	N°UFC.A.
Total de UFC produzida na propriedade	T.UFC
Contaminação final do leite	C.F.L.
Contaminação final do queijo	C.F.Q.
Dose infectante humana	DI
Rendimento para fabricação do queijo minas	RF
Quantidade de queijo minas artesanal a ser consumida para ingestão da dose infectante	Q1

Fonte: Cesar Marquetti, 2017.

Para estimar o número de animais em lactação (N°A.L.), aplicou-se um processo de distribuição binomial:

$$N^{\circ}A.L. = Binomial(N^{\circ}F.P.; Prop.A.L.)$$

Onde N°F.P. representa o número de fêmeas na propriedade e Prop.A.L. a proporção de animais em lactação.

A estimativa do número de animais infectados que estão em lactação (Nº. A. IL.) foi obtida através de distribuição binomial.

$$N^{\circ} A. IL. = \textit{Binomial}(N^{\circ}A. L. ; \textit{Prev. Anim. Infect.})$$

Onde N^oA. L. significa o número de animais em lactação e Prev. Anim. Infect a prevalência de animais infectados em propriedade positiva.

O número de animais infectados em lactação que efetivamente eliminam a bactéria (Nº A. E.B.), foi estimado por distribuição binomial:

$$N^{\circ} A. E. B. = \textit{Binomial}(N^{\circ} A. IL. ; \textit{Prop. A. I.})$$

Sendo N^o. A. IL. o número de animais infectados em lactação e Prop.A.I. a proporção de animais infectados que eliminam a bactéria.

A distribuição de Poisson foi usada para estimar o número de unidades formadoras de colônia (UFC) por animal (α):

$$N^{\circ} UFC. a. = \textit{Poisson}(N^{\circ} B. E. L. ; V. L. A.)$$

Com V. L. A. representando o volume de leite produzido por animal e N^o B. E. L o número de bactérias eliminadas por litro de leite.

Para calcular o número total de UFC produzidas por propriedade (T. UFC), multiplicou-se $N^{\circ} UFC. a.$ (número de unidades formadoras de colônia por animal) pelo N^o A. E. B. (número de animais em lactação que eliminam a bactéria).

$$T. UFC = N^{\circ} UFC. a * N^{\circ} A. E. B.$$

O nível de contaminação final no total de leite (C.F.L.) da propriedade foi calculado dividindo o número total de UFC produzido na propriedade (T. UFC) pelo volume total de leite produzido na propriedade, V.L.P., (multiplicação do número de animais em lactação, N^o A. L., e o volume de leite produzido por animal, V, L.A.).

$$C.F.L. = \frac{T.UFC}{(N^{\circ} A.L.* V.L.A.)}$$

Para obter o volume de queijo produzido por propriedade (V. Q. P.) dividiu-se o volume de leite produzido na propriedade (V. L. A. * N° A. L.) pelo rendimento de fabricação do queijo (EMATER, 2001)

$$V.Q.P. = \frac{V.L.P}{RF}$$

Para estimar a contaminação final do queijo, C. F. Q. (UFC/Kg), aplicou-se a fórmula a seguir:

$$C.F.Q. = \frac{(1 - R.B.Q.) * T.UFC}{V.Q.P.}$$

Onde R. B. Q. representa a redução do número de bactérias durante a transformação de leite em queijo, T. UFC o total de UFC produzidas por propriedade e V. Q. P. o volume de queijo produzido.

Por fim, a partir da contaminação final do queijo (UFC/Kg) estimou-se a quantidade de queijo a ser consumida (Q1) para que haja a ingestão de uma dose infectante de *Mycobacterium bovis*, através de uma distribuição gama com o parâmetro quantidade de queijo consumido, verificada na seguinte fórmula.

$$Q1 = Gamma DI; \frac{1}{C.F.Q.}$$

Onde DI é a dose infectante dada em UFC e C.F.Q. a contaminação final do queijo.

Tratando-se de um processo de Poisson, a distribuição gama é a indicada nesses casos por ser um processo contínuo, baseada na ocorrência de eventos aleatórios.

Dado a heterogeneidade dos resultados, uma vez que grande parte da cadeia de eventos se obteve por análises probabilísticas com variabilidade, estruturou-se cinco (05) cenários, estipulando-se variáveis mais conservadoras ou pessimistas.

O quadro 02 resume os cinco cenários em questão bem como as variáveis de cada um deles.

Quadro 02: resumo dos cenários criados e relação com as respectivas variáveis aplicadas:

Cenários	Variáveis		
	Número de animais eliminando o <i>M. bovis</i> no leite	Carga microbiana de <i>M. bovis</i> eliminada no leite	Dose infectante humana
Cenário 01	1	5,0E+05	100 UFC
Cenário 02	1	5,0E+02	1.000.000 UFC
Cenário 03	1	5,0E+02	100.000 UFC
Cenário 04	2	5,0E+02	1.000.000 UFC
Cenário 05	2	5,0E+05	100.000 UFC

Fonte: Cesar Marquetti

Resultados e Discussão

O resultado da revisão sistemática está apresentado no Quadro 3, onde constam os parâmetros pesquisados, as palavras-chaves utilizadas, a quantidade de artigos obtida em cada base de dados, o valor do parâmetro encontrado e a referência de origem. Aponta, ainda, a indicação do correspondente fluxograma PRISMA gerado, apresentado anexo (anexos I a X).

Quadro 03 - Artigos durante o processo de revisão sistemática

Parâmetro	PRISMA	Palavras - chaves	Base de dados	Quantidade de artigos encontrados	Resultado	Documento
Frequência de eliminação do <i>M. bovis</i> no leite	I	Mycobacterium bovis; Milk; Elimination	SciELO	1	4,00%	International Dairy Federation. The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. Brussels, Belgium. <i>International Dairy Federation</i> , 1964, p. 147 Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis infection. <i>Veterinary Microbiology</i> . John M. Grange, Malcolm D. Yates.
			PubMed	8	1%	
			Elsevier / Abstract	7		
			Science Direct	3		
			Abstract	0		
			Web of Science	6		
Scopus	0					
Carga de <i>M. bovis</i> eliminada no leite	II	Concentration; Mycobacterium bovis; milk	SciELO		5x10 ² a 5x10 ⁵ UFC/ml	Wilson, G. S. The Pasteurization of milk. Editora Edward Arnold Company. Londres. Capítulo 2, página 6 a 9. 1948. Mycobacterium bovis In: The significance of pathogenic microorganisms in raw milk. <i>International Dairy Federation</i> , Brussels, Belgium 141-166
			PubMed	8	5x10 ² UFC/ml	
			Elsevier / Abstract	7		
			Science Direct	4		
			Abstract	0		
			Web of Science	19		
Scopus	0					
Sobrevivência do <i>M. bovis</i> no leite	III	Survival; Mycobacterium bovis; milk	SciELO	1	2 semanas, 10 ⁷ UFC/ml (a 20°C)	Michel AL, Geoghegan C, Hlokwé T, Raseleka K, Getz WM, Marcotty T (2015) Longevity of Mycobacterium bovis in Raw and Traditional Souring Milk as a Function of Storage Temperature and Dose ROSEMBERGER, G. Enfermedades de los bovinos. Buenos Aires, Editorial Hemisferio Sur, v.2. p.139-51. 1983.
			PubMed	15	15 dias	
			Elsevier / Abstract	12		
			Science Direct	3		
			Abstract	0		
			Web of Science	15		
Scopus	3					
Temperatura de multiplicação de <i>M. bovis</i> no leite	IV	Mycobacterium bovis; growth temperature	SciELO	1	25°C a 50°C	Food and Drug Administration. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins. Segunda edição. Capítulo Bactéria patogênica, p. 104-107. 2012. Ministério da saúde. Manual de bacteriologia da tuberculose. 2a edição. Rio de Janeiro. Capítulo 4. P. 59-64. 1994.
			PubMed	50	35°C a 37°C	
			Elsevier / Abstract	5		
			Science Direct	3		
			Abstract	0		
			Web of Science	20		
Scopus	0					
Dose infectante humana	V	Mycobacterium bovis; infecting dose; human	SciELO	0	Desconhecida. Sugere milhões de organismos	Advisory committee on the microbiological safety of food ACMSF. Risk assessment: The possible health risks to consumers associated with <i>M. bovis</i> and unpasteurised milk and milk products. Food and Drug Administration. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins. Segunda edição. Capítulo Bactéria patogênica, pp. 104 a 107. 2012.
			PubMed	2	Desconhecida. Sugere estar entre dezenas a milhares de organismos	
			Elsevier / Abstract	0		
			Science Direct	14		
			Abstract	0		
			Web of Science	2		
Scopus	0					

Fonte: Cesar Marquetti, 2017

Quadro 3 (continuação): Artigos durante o processo de revisão sistemática

Parâmetro	PRISMA	Palavras - chaves	Base de dados	Quantidade de artigos encontrados	Resultado	Documento
pH de sobrevivência do <i>Mycobacterium bovis</i>	VI	pH; <i>Mycobacterium bovis</i> ; survival; milk	Scielo	0	ΔpH 2,1 - 2,3	Rao M., Streur L. T., Aldwell E. F., Cook M. G. Intracellular pH regulation by <i>Mycobacterium smegmatis</i> and <i>Mycobacterium bovis</i> BCG
			PubMed	10		
			Elsevier / Abstract	0		
			Science Direct	0		
			Abstract	0		
			Web of Science	2		
Scopus	0					
pH ideal para crescimento do <i>Mycobacterium bovis</i>	VII	pH; <i>Mycobacterium bovis</i> ; milk	Scielo	0	5,8 - 6,7	Vandal O. H., Nathan C. F., Ehrh S. Acid resistance in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . American Society for Microbiology. Journal of Bacteriology. 2009.
			PubMed	86		
			Elsevier / Abstract	3		
			Science Direct	1		
			Abstract	0		
			Web of Science	4		
Scopus	1					
Alteração da carga do <i>Mycobacterium bovis</i> pela transformação do leite em queijo	VIII	<i>Mycobacterium bovis</i> ; cheese maturation; microbial death	Scielo	0	Redução de 6,1 a 5,5	Stariokoff R. K., et al. Decaimento do <i>Mycobacterium bovis</i> e da <i>Brucella abortus</i> durante a cura do queijo tipo parmesão experimentalmente contaminado. Revista Semina: Ciências Agrárias. V. 37, n 5, suplemento 2. p 3743-3758, 2016.
			PubMed	0		
			Elsevier / Abstract	0		
			Science Direct	76		
			Abstract	0		
			Web of Science	1		
Scopus	10					
Bacteriocinas	IX	<i>Mycobacterium bovis</i> ; lactic acid resistance; milk	Scielo	0	-	Sieiro A. P. et al. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. Appl Microbiol Biotechnol, 100. p. 2939-2951. 2016.
			PubMed	19		
			Elsevier / Abstract	0		
			Science Direct	1		
			Abstract	1		
			Web of Science	1		
Scopus	23					
Análise de risco de <i>Mycobacterium bovis</i> em leite	X	<i>Mycobacterium bovis</i> ; risk; milk	Scielo	2	-	-
			PubMed	58		
			Elsevier / Abstract	8		
			Science Direct	12		
			Abstract	0		
			Web of Science	88		
Scopus	96					

Fonte: Cesar Marquetti, 2017.

A prevalência de animais positivos para tuberculose, para a propriedade caracterizada neste modelo, foi de 6%. Este valor é mais alto do que a média para a tuberculose animal obtida no estudo de Barbieri et al. (2016), no entanto deve-se ter em mente que foi escolhido, para esta análise, o maior valor de prevalência animal obtido nas propriedades-perfil para representar o pior cenário.

A redução da concentração do agente utilizada, devido à transformação do leite em queijo, foi de 9,83%, reportada para queijo parmesão fabricado em laboratório (STARIKOFF et al., 2016), por falta de dados específicos do queijo minas artesanal.

Nas condições estabelecidas no estudo, na propriedade haveria, em média, 24 vacas em lactação. No entanto, poderia haver entre 20 e 27 vacas lactando (90% de probabilidade), entre 14 e 19 (5% de probabilidade) ou, ainda, 28 a 30 (5% de probabilidade).

O número de vacas infectadas e em lactação foi, em média, 1, havendo 95% de chance de ser entre 0 e 4 animais. No entanto, poderia ser entre 5 e 7 (5% de probabilidade) animais infectados e em lactação

O número de vacas infectadas em lactação e eliminando o agente pelo leite foi 0 (zero) (94,2% de probabilidade). No entanto, poderia haver 1 animal eliminando o *M. bovis*. (5,6% de probabilidade) ou 2 animais (0,1%), o que pode ser considerado como um risco significativo. Considerando que o animal que não esteja eliminando a bactéria não representa risco, nas condições estabelecidas para o estudo, prosseguiram-se as estimativas considerando 1 e 2 animais infectados em lactação e eliminando o agente.

Os dados encontrados na literatura sobre eliminação de *M. bovis*. no leite foram, entre 5×10^2 a 5×10^5 UFC/ml (WILSON, 1948), 5×10^2 UFC/ml (SINHA, 1964); como o segundo dado está contemplado nos dados do primeiro autor, utilizou-se neste estudo tanto a carga mínima quanto a carga máxima reportada na literatura. Embora a literatura cite que a eliminação do *M. bovis*. é intermitente, indicando que o nível de contaminação no leite pode variar (MENZIES e NEIL, 2000), não foram encontradas informações que permitissem incluir essa variável no estudo. Além disso, não foram encontrados dados de variação na carga eliminada ao longo da lactação e, portanto, foram estabelecidas mais duas premissas: tanto a frequência de eliminação do *M.*

bovis no leite quanto a carga eliminada permanecem constantes. Não foi modelada a possibilidade parâmetro se alterar durante a vida produtiva do animal.

Para o cálculo do volume de queijo produzido na propriedade foi considerado um rendimento de fabricação de 6,5 litros para 1 quilo de queijo minas artesanal (EMATER, 2001). Devido ao fato de um dos dados utilizados (número de animais em lactação) ser calculado por uma distribuição, o volume de queijo também resultou em uma distribuição e não em um valor absoluto. A média de produção da propriedade, portanto, foi de 92,3Kg, sendo 90% de probabilidade de produção entre 76,9 e 103,8 Kg, 5% de produção entre 53,8 a 76,8 Kg e 5% entre 103,9 e 115,3Kg. podendo variar de 16,46kg a 37,4kg.

Quanto à dose infectante, os resultados da literatura variaram entre dezenas e milhões de UFC (FDA, 2012), e milhões de organismos (FSA, 2011); foram realizadas simulações utilizando três cargas infectantes: 100 UFC, 100.000 UFC. e 1.000.000 UFC, caracterizando cenários pessimista, intermediário e conservador, respectivamente.

Devido às incertezas sobre a carga de *M. bovis*. eliminada no leite (que é determinante para a concentração do agente no leite e, conseqüentemente, no queijo) e sobre a dose infectante, foram simulados alguns cenários (diferentes valores para cada variável) para o cálculo da contaminação final de UFC/l de leite da propriedade e do queijo e, conseqüentemente, da quantidade de queijo necessária para ingerir 1 dose infectante.

O quadro 4 representa as etapas (*outputs*) que foram realizadas sequencialmente em todos os cenários criados, dados os *inputs* previamente estabelecidos.

Quadro 4: Cálculos realizados sequencialmente em todos os cenários dados os parâmetros estabelecidos.

Etapas (<i>Outputs</i>)	Processo	Parâmetros (<i>inputs</i>)
1) N° de UFC produzidas por animal;	Distribuição de Poisson	Volume de leite produzido por animal (VL@); N° de bactérias eliminada no leite.
2) N° total de UFC produzidas por propriedade (Ω).	Multiplicação	N° de animais em lactação eliminando a bactéria; N° de UFC produzidas por animal.
3) Contaminação final do leite (UFC/L)	$\dot{\gamma}/(S \epsilon * \vartheta \omega)$	N° total de UFC produzidas po propriedade; N° de animais em lactação (N°.A.L.) e volume de leite produzido por animal (V.L.@)
4) Contaminação final do queijo (UFC/Kg)	$(1 - \underline{\omega}) * \dot{\gamma} / \vartheta \varphi$	Redução de bactérias na transformação leite queijo; N° total de UFC produzidas por propriedade; volume de queijo produzido.
5) Volume de queijo a ser consumido para ingestão da dose infectante de <i>M. bovis</i> .	Distribuição Gama	Dose infecante; Contaminação final do queijo.

Fonte: CESAR MARQUETTI, 2017.

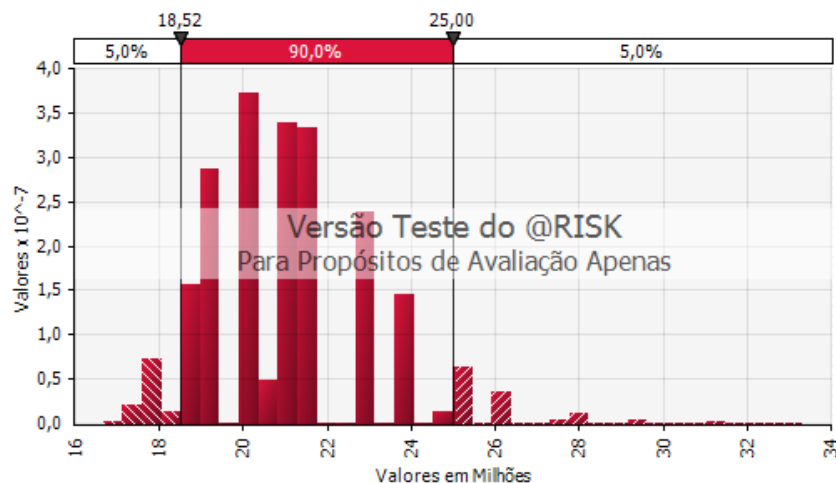
- **Cenário 01**

Varáveis utilizadas neste cenário: 1 animal eliminando o *M. bovis*. no leite; carga eliminada de *M. bovis*. no leite de 5×10^5 UFC / ml e a dose infectante humana de 100 UFC.

O número de UFC produzidas por animal: 90% de probabilidade de um animal produzir de $12,4998 \times 10^9$ a $12,5001 \times 10^9$ UFC, sendo $12,5 \times 10^9$ UFC a média, 5% do animal produzir de $12,4995 \times 10^9$ a $12,4997 \times 10^9$ UFC e 5% de probabilidade para produzir de $12,5002 \times 10^9$ a $12,5004 \times 10^9$ UFC. Dado que, neste cenário, apenas um animal está eliminando, o número total de UFC na propriedade é igual ao que foi produzido pelo animal.

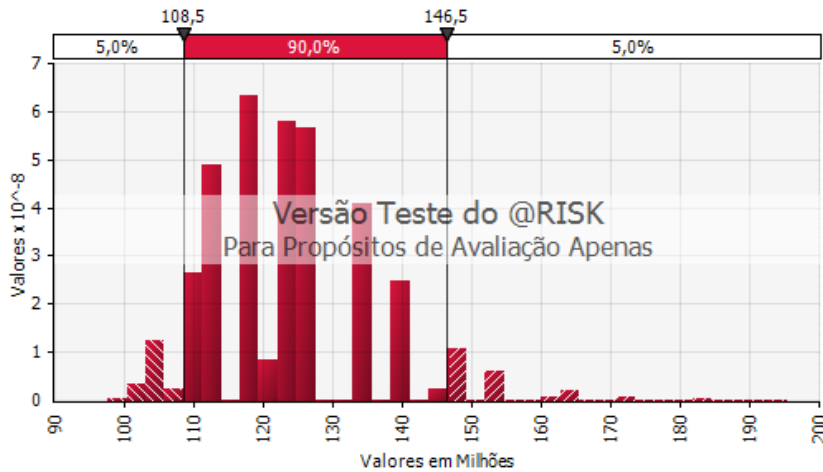
Observa-se, no gráfico 1, a probabilidade do nível de contaminação final do leite: 90% de ter entre $1,85 \times 10^7$ a $2,5 \times 10^7$ UFC/l, 5% de estar entre $1,66 \times 10^7$ a $1,84 \times 10^7$ UFC/l e 5% de a carga microbiana de *M. bovis*. estar entre $2,6 \times 10^7$ e $3,33 \times 10^7$ UFC/l.

Gráfico 1 - Contaminação final do leite (UFC/L)



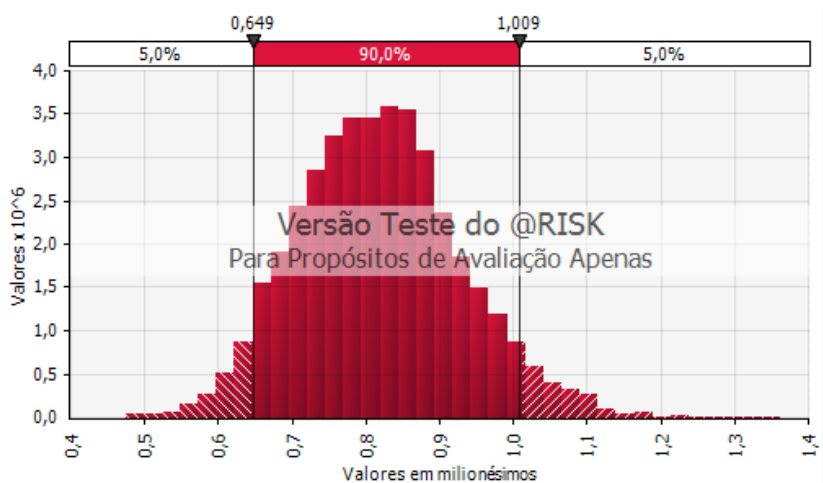
Para o produto final (queijo), observa-se no gráfico 2, 90% de probabilidade da contaminação estar entre $1,08 \times 10^8$ a $1,46 \times 10^8$ UFC/kg sendo $1,23 \times 10^8$ UFC/kg o valor médio, 5% de estar entre $9,77 \times 10^7$ a $1,07 \times 10^8$ UFC/Kg do *M. bovis*. e 5% de estar entre $1,47 \times 10^8$ e $1,95 \times 10^8$ UFC/Kg.

Gráfico 2 - Contaminação final do queijo (UFC/Kg)



O gráfico 3 apresenta a quantidade de queijo minas artesanal que deve ser consumida para ingestão de pelo menos a dose infectante. Verifica-se que, nesse cenário, qualquer quantidade do queijo que fosse ingerida, excederia a dose infectante em muitas vezes. Em média, seriam suficientes ingerir $8,18 \times 10^{-7}$ Kg (ou $8,18 \times 10^{-4}$ g); em 90% dos casos seriam suficientes a ingestão de $0,6 \times 10^{-7}$ a 1×10^{-6} Kg, em 5% a ingestão de $4,74 \times 10^{-7}$ a $0,5 \times 10^{-7}$ Kg e em 5% a ingestão $1,01 \times 10^{-6}$ a $1,36 \times 10^{-6}$ Kg do queijo minas artesanal para que a dose infectante fosse ingerida.

Gráfico 3 - Quantidade de queijo a ser consumida para ingestão da dose infectante, cenário 1



Para este cenário extremo, nota-se que 0,818 mg de queijo minas artesanal possui a dose infectante do *M. bovis*. . O motivo pelo qual a quantidade necessária de ingestão de queijo ter sido baixa, mesmo com apenas 1 animal eliminando o *M. bovis*. no leite, foi a combinação do baixo valor considerado da dose infectante humana e a alta concentração do agente eliminada no leite. Esse cenário é muito pouco provável já que, nele, a frequência de tuberculose humana por *M. bovis*. seria elevada, considerando a grande aceitação desse queijo pela população.

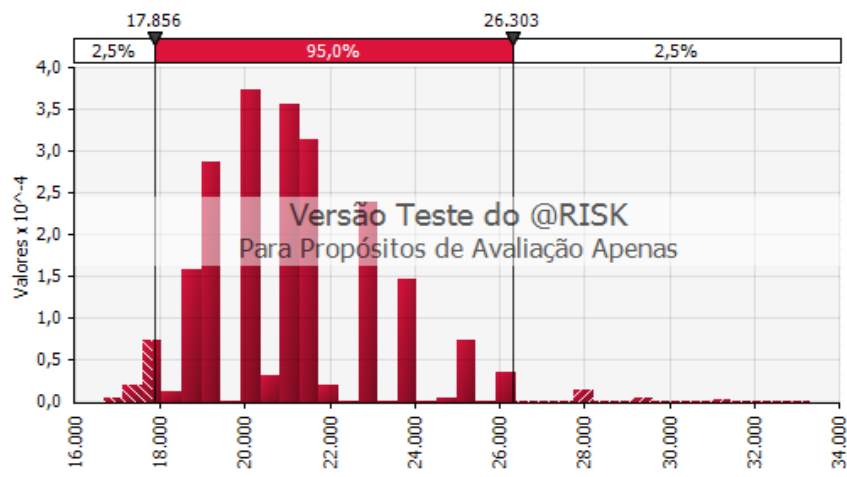
- **Cenário 2**

Varáveis utilizadas: 1 animal eliminando o *M. bovis*. no leite; carga de *M. bovis*. eliminada no leite de 5×10^2 UFC/ml e a dose infectante humana de 1.000.000 UFC; a diferença para o cenário 1 é a carga eliminada e a dose infectante.

O número de UFC produzidas por animal foi: 90% de probabilidade de um animal produzir de $12,494 \times 10^6$ a $12,505 \times 10^6$ UFC sendo $12,5 \times 10^6$ UFC a média verificada, 5% do animal produzir de $12,486 \times 10^6$ UFC a $12,493 \times 10^6$ UFC e 5% de $12,506 \times 10^6$ UFC a $12,514 \times 10^6$ UFC.

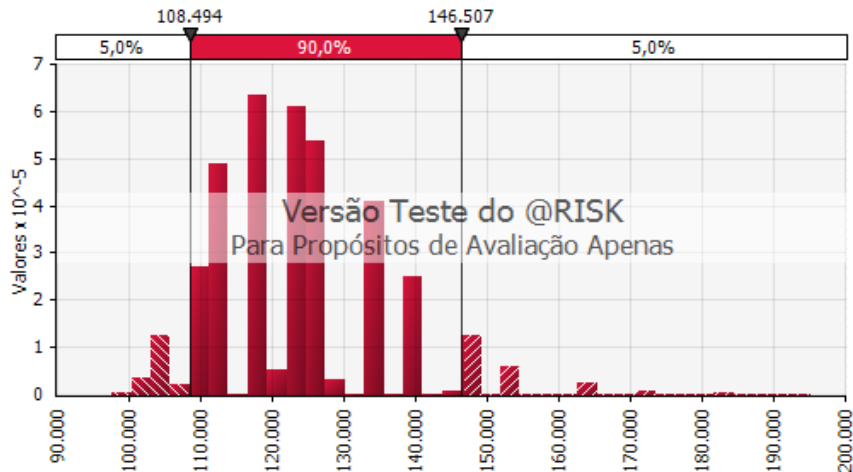
Observa-se, no gráfico 4, os resultados obtidos na contaminação final do leite: 90% de probabilidade de ter entre $1,78 \times 10^4$ e $2,63 \times 10^4$ UFC/L, sendo $2,10 \times 10^4$ o valor médio, 5% entre $1,66 \times 10^4$ e $1,77 \times 10^4$ UFC/L e 5% da carga microbiana de *M. bovis*. estar entre $2,64 \times 10^4$ a $3,33 \times 10^4$ UFC/L.

Gráfico 4 - Contaminação final do leite (UFC/L)



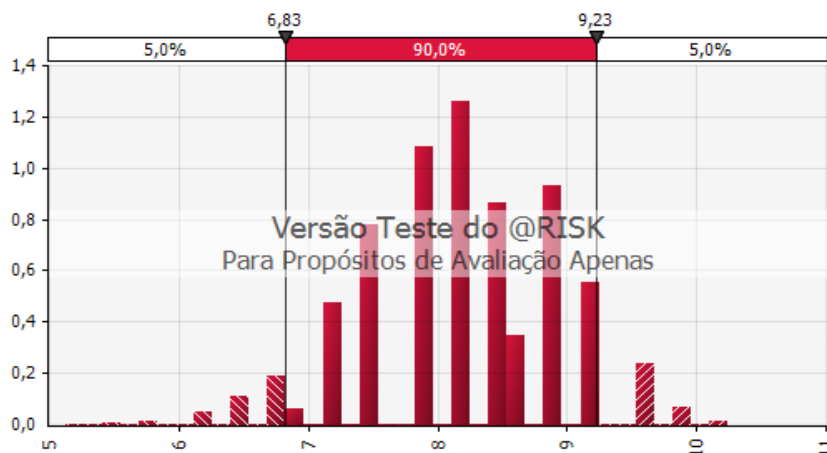
A contaminação final do queijo foi, com 90% de probabilidade, de estar entre $1,08 \times 10^5$ e $1,46 \times 10^5$ UFC/kg, 5% entre $9,76 \times 10^4$ e $1,07 \times 10^5$ UFC/Kg do *M. bovis*. e 5% da concentração estar entre $1,47 \times 10^5$ a $1,95 \times 10^5$ UFC/Kg (gráfico 5).

Gráfico 5 - Contaminação final do queijo (UFC/Kg)



Observa-se no gráfico 6 o volume de queijo minas artesanal a ser consumido para a ingestão da dose infectante de *M. bovis*. : 90% de chance da ingestão da dose infectante ser atingida quando a ingestão for entre 6,83 e 9,23 Kg de queijo minas artesanal sendo 8,18 Kg a média, 5% de ser entre 5,12 e 6,82 Kg e 5% entre 9,24 e 10,2 Kg.

Gráfico 6 - Quantidade de queijo a ser consumida para ingestão da dose infectante, cenário 2



Verifica-se um resultado oposto quando comparado com o cenário 1: enquanto dava-se a ingestão de 0,818 mg com uma carga de *M. bovis*. eliminada no leite de 5×10^8 UFC/L, neste a quantidade é de aproximadamente de 8,18 Kg, considerando uma carga inicial da micobactéria de 5×10^5 UFC/L.

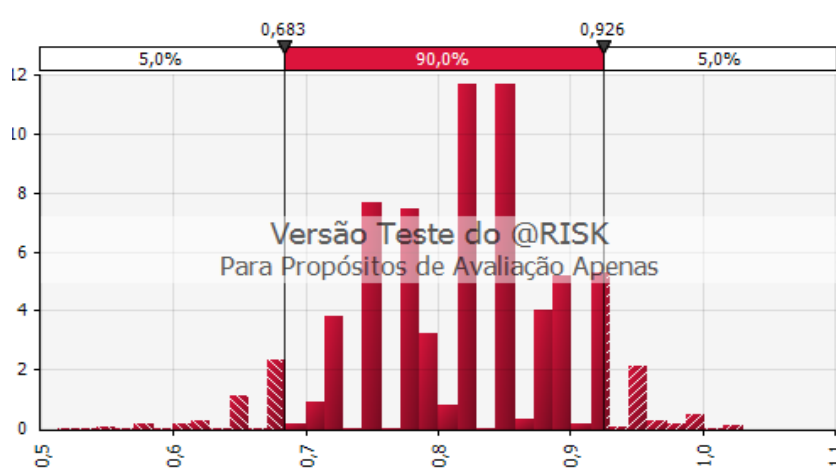
- **Cenário 3**

Varáveis utilizadas: 1 animal eliminando o *M. bovis*. no leite; carga de *M. bovis*. eliminada no leite de 5×10^2 UFC/ml e dose infectante humana de 100.000 UFC.

O número de UFC produzidas por animal, o número total de UFC produzidas na propriedade, a contaminação final do leite e a contaminação final do queijo mantiveram-se iguais ao cenário 2.

O gráfico 7 apresenta a quantidade de queijo para ingestão da dose infectante: 90% de probabilidade que sejam necessários entre 0,68 Kg e 0,92 Kg, sendo 0,818Kg a quantidade média, 5% de estar entre 0,51 e 0,67 Kg e 5% de estar entre 0,93 e 1,03 Kg.

Gráfico 7 - Quantidade de queijo a ser consumida para ingestão da dose infectante, cenário 3



Entende-se que este é um cenário intermediário e que 818g de queijo é uma quantidade factível de ser ingerida.

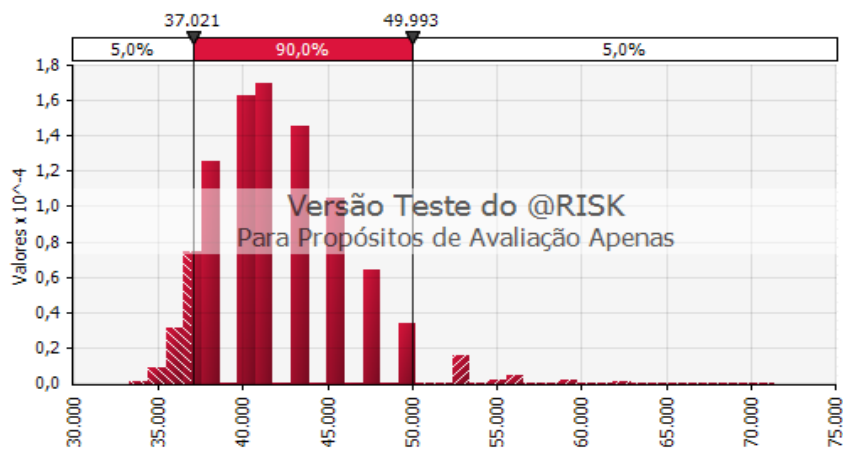
- **Cenário 4**

Varáveis utilizadas: 2 animais eliminando o *M. bovis*. no leite; carga de *M. bovis*. eliminada no leite de 5×10^2 UFC/ml (SINHA, 1964), e a dose infectante humana de 1.000.000 UFC.

Comparado ao cenário 2, o número de UFC produzido por animal não foi alterado, porém o total de UFC produzidas na propriedade dobrou, em média, $24,999 \times 10^6$ UFC. Verifica-se que há 90% de probabilidade da propriedade produzir de $24,988 \times 10^6$ a $25,011 \times 10^6$ UFC, 5% de produzir entre $24,966 \times 10^6$ a $24,987 \times 10^6$ UFC e 5 % entre $25,012 \times 10^6$ a $25,026 \times 10^6$ UFC.

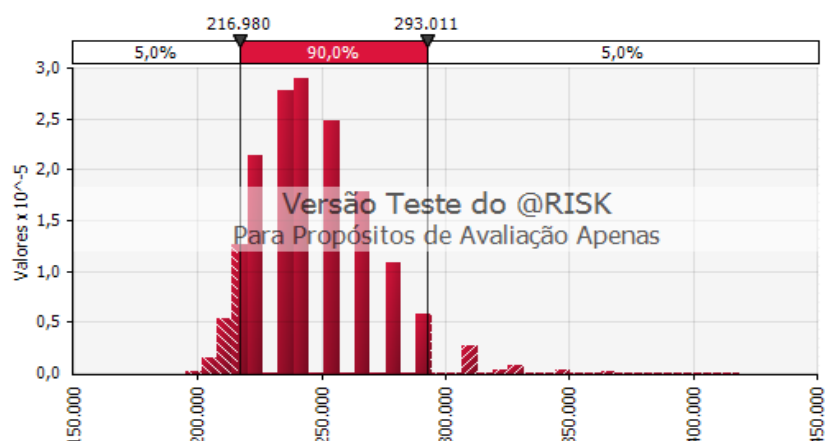
A contaminação final do leite também foi proporcional ao dobro de animais eliminando *M. bovis*. Nota-se 90% de probabilidade da carga microbiana no leite estar entre $3,7 \times 10^4$ e $4,99 \times 10^4$ UFC/L, onde $4,2 \times 10^4$ UFC/L é o valor médio, 5% de estar entre $3,33 \times 10^4$ e $3,69 \times 10^4$ UFC/L e 5% entre 5×10^4 e $7,14 \times 10^4$ UFC/L (gráfico 8).

Gráfico 8 - Contaminação final do leite (UFC/L)



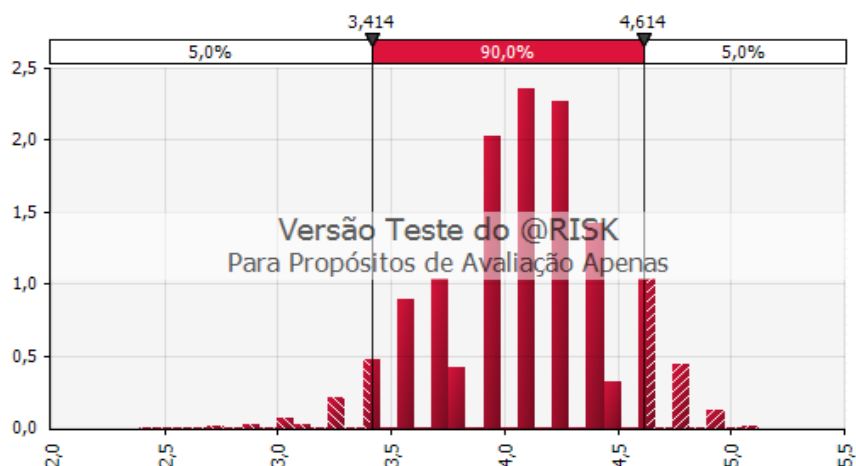
Em relação ao cenário 2, a contaminação final do queijo dobrou e o volume de queijo a ser consumido diminuiu pela metade. O gráfico 9 registra que existe 90% de probabilidade da contaminação final do queijo ser entre $2,16 \times 10^5$ a $2,93 \times 10^5$ UFC/Kg, com $2,46 \times 10^5$ UFC/Kg representando o valor médio, 5% de ser entre $1,95 \times 10^5$ a $2,15 \times 10^5$ UFC/Kg e 5% entre $2,94 \times 10^5$ a $4,18 \times 10^5$ UFC/Kg.

Gráfico 9 - Contaminação final do queijo (UFC/Kg)



O gráfico 10 representa o volume de queijo a ser consumido para que haja a ingestão da dose infectante: 90% de probabilidade da quantidade necessária de consumo ser entre 3,41 e 4,61 Kg, sendo 4,09 Kg o valor médio, 5% de ser entre 2,38 e 3,40 Kg e 5% de ser entre 4,62 e 5,12 Kg.

Gráfico 10 - Quantidade de queijo a ser consumida para ingestão da dose infectante, cenário 4



Entende-se a dependência do cenário de risco em relação à quantidade de animais em lactação que eliminam a bactéria. Mesmo com todos os demais parâmetros sendo mantidos, a diferença entre o cenário 4 e 2 é considerável, 4,09 Kg e 8,18 Kg de queijo, respectivamente.

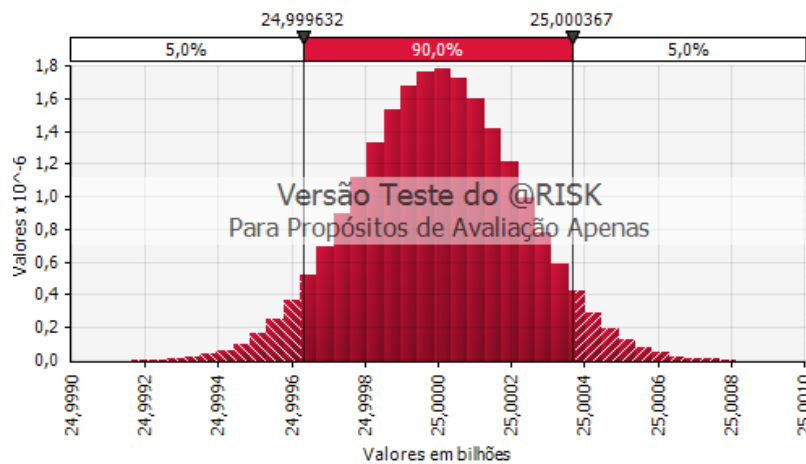
- **Cenário 5**

Varáveis utilizadas: 2 animais eliminando o *M. bovis*. no leite; carga de *M. bovis*. eliminada no leite de 5×10^5 UFC/ml e dose infectante humana de 100.000 UFC.

Por ser um cenário onde intensificou-se o parâmetro de carga bacteriana eliminada, o número de UFC produzidas por animal foi, conseqüentemente, maior; 90% de probabilidade de um animal produzir de $12,4998 \times 10^9$ a $12,5001 \times 10^9$ UFC, sendo $12,5 \times 10^9$ o valor médio, 5% de produzir $12,4995 \times 10^9$ a $12,4997 \times 10^9$ UFC e 5% de probabilidade para produzir de $12,5002 \times 10^9$ a $12,5004 \times 10^9$ UFC.

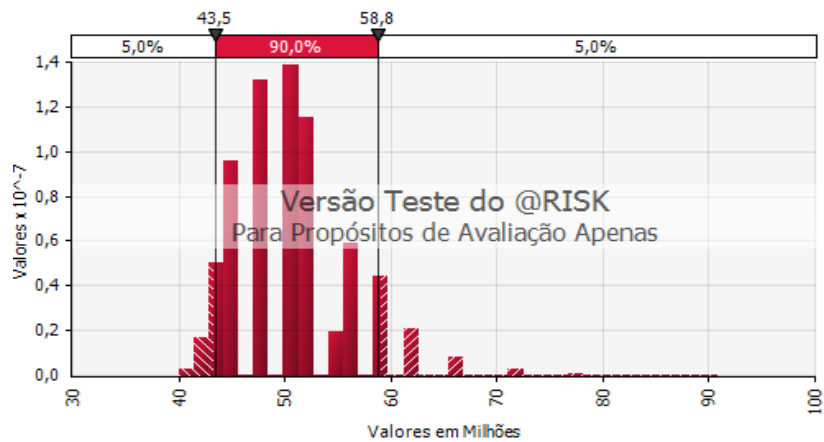
O total de UFC produzido na propriedade foi apresentado no gráfico 11. Verifica-se que há 90% de probabilidade de a propriedade produzir de $24,9996 \times 10^9$ a 25×10^9 UFC, 5% de produzir entre $24,9991 \times 10^9$ a $24,9995 \times 10^9$ e 5% entre 25×10^9 a $25,0008 \times 10^9$.

Gráfico 11 - Total de UFC produzido na propriedade



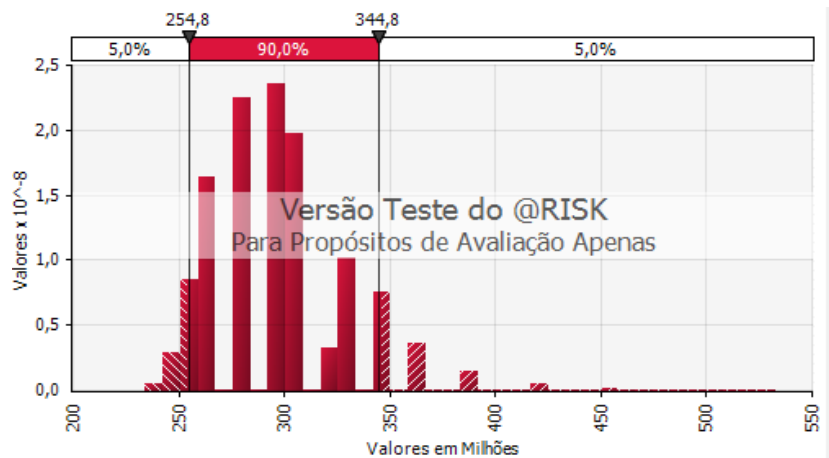
Quando comparado com o cenário 4, foi maior a contaminação final do leite: 90% de probabilidade de ter entre $4,3 \times 10^7$ e $5,8 \times 10^7$ UFC/L, sendo 5×10^7 UFC/L a média, 5% entre $3,9 \times 10^7$ e $4,2 \times 10^7$ UFC/L e 5% entre $5,9 \times 10^7$ e 9×10^7 UFC/L O gráfico 12 apresenta esses resultados.

Gráfico 12 - Contaminação final do leite (UFC/L)



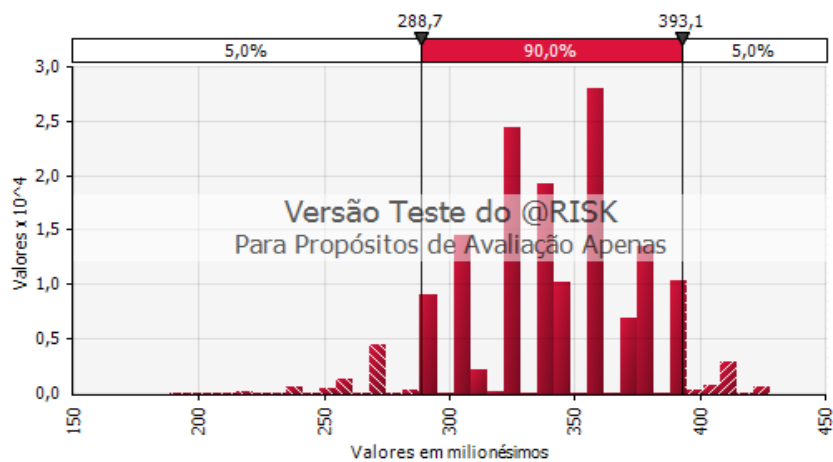
O gráfico 13 apresenta a contaminação final do queijo (UFC/Kg), no qual nota-se 90% de probabilidade de conter, no produto final, entre $2,54 \times 10^8$ e $3,44 \times 10^8$ UFC/Kg, sendo $2,96 \times 10^8$ UFC/Kg o valor médio, 5% entre $2,34 \times 10^8$ e $2,54 \times 10^8$ UFC/Kg e 5% entre $3,45 \times 10^8$ e $5,32 \times 10^8$.

Gráfico 13 - Contaminação final do queijo (UFC/Kg)



A quantidade de queijo a ser consumida para que ocorra ingestão da dose infectante foi, com 90% de probabilidade, 0,28g a 0,39g, com valor médio de 0,34g, 5% de probabilidade de ser entre 0,18g e 0,27g e 5% de probabilidade de ser entre 0,40 e 0,42g (gráfico 14). Valores bastante factíveis de serem consumidos.

Gráfico 14 - Quantidade de queijo a ser consumida para ingestão da dose infectante, cenário 5



A quantidade de queijo a ser ingerida resultada neste cenário foi o valor mais baixo, com exceção do cenário 1, mesmo considerando uma dose infectante relativamente alta.

Na tabela 1 consolidaram-se os valores médios encontrados, identificando os cenários trabalhados, o N° de UFC produzidas por animal (N° de UFC / animal), o N° total de UFC produzidas por propriedades (N° UFC / Propriedade), a contaminação final do leite, (C.F.L UFC / L), contaminação final do queijo (C.F.Q. UFC/Kg) e a quantidade de queijo (Kg) a ser ingerida para que ocorra ingestão de pelo menos uma dose infectante do *M. bovis*.

Tabela 1 - valores médios e as respectivas unidades de expressão encontrados para os parâmetros pesquisados nos 5 cenários estudados.

Cenários	N° de UFC / animal	N° UFC / Propriedade	C.F.L (UFC/L)	C.F.Q. (UFC/Kg)	Quantidade de
					queijo a ser ingerida (Kg)
1	1,25E+10	1,25E+10	21.016.019	123.175.943	8,19E-07
2	1,25E+07	1,25E+07	21.015	123.175	8,18
3	1,25E+07	1,25E+07	21.015	127.174	0,818
4	1,25E+07	2,50E+07	42.033	246.360	4,09
5	1,25E+10	2,50E+10	50.532.155	296.171.491	3,41E-04

Fonte: CESAR MARQUETTI, 2017.

A tabela 2 relaciona de maneira sintetizada a quantidade de queijo a ser consumida com as variáveis utilizadas nos 5 cenários.

Tabela 2 - relação entre quantidade de queijo a ser ingerida para que se atinja a dose infectante para cada cenário avaliado.

Cenários	Dose Infectante (UFC)	Carga eliminada de <i>M. bovis</i> (UFC/ml)	Quantidade de animais eliminando a bactéria	Quantidade de queijo a ser ingerida (Kg)
1	100	500.000	1	0,00000819
2	1.000.000	500	1	8,18
3	100.000	500	1	0,818
4	1.000.000	500	2	4,09
5	100.000	500.000	2	0,0003412

Fonte: CESAR MARQUETTI, 2017.

É interessante observar que o número de animais eliminando a bactéria teve pouco impacto na porção de queijo a ser ingerida, até que se consuma a dose infectante. Por outro lado, as incertezas relacionadas à dose infectante e a carga de *M. bovis* eliminada no leite, por apresentarem alta variabilidade, representaram os fatores mais importantes na determinação do risco de infecção humana por *M. bovis* pelo consumo deste queijo, como pode ser observado comparando-se os cenários 1 e 2, bem como os cenários 2 e 4.

Outro aspecto relevante a ser considerado é que pessoas imunossuprimidas, ou com alguma outra condição debilitante, provavelmente são susceptíveis à doses menores do agente. Apesar de ter se considerado nesta pesquisa valores próximos ao mínimo relatado como dose infectante, deve-se considerar a possibilidade de que para o grupo de imunossuprimidos a dose pode ser ainda mais baixa do que a aqui utilizada.

Observa-se que a quantidade de queijo a ser consumida teve grandes variações, revelando que são necessários estudos para melhorar a qualidade e a quantidade dos dados disponíveis para que possa ser feita uma estimativa mais acurada. Os dados obtidos sugerem que o risco pode ser significativo, portanto, sugere-se que o modelo seja utilizado, com dados que de fato caracterizem as propriedades que fabricam queijo minas artesanal em Minas Gerais, mas para tanto,

é necessário que seja feito um censo dessas propriedades pois não foram encontradas na literatura informações sobre o assunto.

O modelo pode ser aprimorado, tanto pela melhoria dos dados disponíveis em todas as etapas da cadeia, quanto pela produção de dados de qualidade como a intermitência da eliminação do agente, flutuação da carga eliminada, a cinética de sobrevivência do agente neste queijo, interação com microbiota natural, efeito de bacteriocinas, desenvolvimento de modelos para avaliar dose infectante, para citar alguns exemplos e, assim, reduzir as incertezas associadas ao fenômeno.

As falhas de Boas Práticas podem potencializar o cenário criado, interferindo diretamente nos resultados. Foi considerada apenas a contaminação do leite via excreção, porém entende-se que seja plausível a contaminação ocorrer também pelas fezes e urina, incrementando a carga inicial no leite ou contaminando-o nos casos em que a vaca esteja infectada, mas (ainda) não eliminando o agente pelo leite. Evidentemente, tal tipo de contaminação pode ser evitado através das Boas Práticas na ordenha, e a falha na sua execução compromete também a qualidade higiênica do queijo, podendo, ainda, contribuir com a presença de outros patógenos no produto final.

Além disso, é possível que o resultado seja alterado devido à redução da prevalência da doença no rebanho, que pode contribuir significativamente com o risco de exposição do consumidor ao *M. bovis*. A prevalência utilizada neste estudo pode não representar a realidade, uma vez que o objetivo não foi avaliá-la, mas sim utilizar um dado mais aproximado e disponível no momento.

Apesar da variabilidade no risco que o produto pode representar para o consumidor, acredita-se que o modelo proposto possa ser utilizado com os dados que representem o perfil do produtor, para subsidiar o gerenciamento do risco. Maior acurácia pode ser obtida com pesquisas futuras que esclareçam as incertezas relacionadas aos parâmetros utilizados.

Conclusão

Nas condições estabelecidas, o mais provável (94,2%) é que não houvesse nenhum animal infectado por *M. bovis* nas propriedades, que o estivesse eliminando no leite e, portanto, o risco seria inexistente. Entretanto, nas propriedades em que houvesse pelo menos um animal excretando o agente no leite, o risco poderia não ser negligenciável.

Conclui-se que há necessidade de caracterizar as propriedades que fabricam este queijo no estado de Minas Gerais, para que a inferência do risco possa ser mais precisa, e de pesquisas que reduzam as incertezas de alguns parâmetros necessários ao modelo.

Referências

- ADVISORY COMMITTEE ON THE MICROBIOLOGICAL SAFETY OF FOOD. **Risk assessment: The possible health risks to consumers associated with *M. bovis*. and unpasteurised milk and milk products.** Reino Unido, v.1, Sept. 2011. Disponível em: <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/mnt/drupal_data/sources/files/multimedia/pdfs/committee/acm1047a.pdf>. Acesso em: 17 de maio de 2017.
- BARBIERI, M. J.; OLIVEIRA, F. L.; DORNELES, S.M. E.; MOTA, A. A. L. A.; GONÇAVES, P. S. V.; MALUF, P. P.; NETO, F.S. J.; FERREIRA, F.; DIAS, A. R.; TELLES, O. E.; FILHO, G. H. H. J.; HEINEIMANN, B. M.; AMAKU, M.; LAGE, P. A. Situação epidemiológica da tuberculose bovina no estado de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3531-3548, 2016.
- BLOOD, D. C.; RADOSTITS, O. M.; HERNDERSON, J. A. **Veterinary Medicine: A textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pig, Goats and Horses.** 9. ed. [S.l.]:Saunders, p. 631-643, 2006.
- BRASIL. Lei nº 7.889 de 23 de novembro de 1989. Dispõe sobre a inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 24 de novembro de 1989.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n. 30 de 07 de agosto de 2013.** Dispõe sobre o período de maturação dos queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru. Brasília: MAPA, 2013. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=consultarLegislacaoFederal>>. Acesso em: 22 setembro de 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal.** Brasília: MAPA/SDA/DSA, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria n. 146, de 07 de março de 1996.** Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite UAT (UHT). Brasília: MAPA, 2005. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=4349>>. Acesso em: 08 de outubro de 2017.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria n. 146, de 07 de março de 1996.** Regulamento técnico de Identidade e Qualidade dos Queijos. Brasília: MAPA, 2006.
- CORDANO, A. M.; ROCOURT, J. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. **International Journal of Food Microbiology.** v. 70, p.175-178, Outubro, 2001.

CONTANDRIOPOULOS, D. et al. **Knowledge exchange processes in organisations and policy arenas: a narrative systematic review of the literature**. *Millbank Quarterly*, v. 88, n. 4, p. 444-483, Dec, p. 671-689. 2010.

CORREA, W. M.; CORREA, C.N.M. Tuberculose. In: **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. São Paulo: Editora Varela, 1979, p. 340-341.

DEAN, A. G.; DEAN J. A.; COULOMBIER, D.; BRENDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K.; FAGAN, R. F.; ARNER, T. G.A. **A word processing database, and statistics program for epidemiology on microcomputers**. Atlanta, 1994. *Epi Info*, versão 6, Center for Diseases Control and Prevention, p. 601.

DIAS, A. R.; ULLOA-STANOJLOVIC, M. F.; BELCHIOR, C. P. A.; FERREIRA S. R.; GONÇALVES C. R.; AGUIAR, B. C. S. R.; SOUSA, R. P., SANTOS A. M. A., AMAKU M., FERREIRA F., TELLES O. E., FILHO G. H. H. J.; GONÇALVES, P. S. V.; HEINEMANN, B. M.; NETO, F. S. J. Prevalência e fatores de risco para tuberculose bovina no estado de São Paulo. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, vol. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3673-3684, 2016.

EMATER, M. **Caracterização da microrregião da canastra como produtora do queijo minas artesanal**. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Minas Gerais, Brasil. 2016. Disponível em: <http://www.emater.mg.gov.br/doc/intranet/upload/queijo_historico/caracteriza%C3%A7%C3%A3o%20do%20queijo%20canastra.pdf>. Acesso em: 12 de novembro de 2017.

EMATER, M. **Processamento do leite. Queijo minas frescal, meia-cura, mussarela**. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Minas Gerais, Brasil. 2001. Disponível em: <https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/9570/9570_6.PDF>. Acesso em: 12 de novembro de 2017.

FDA Food and Drug Administration. **Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins**. Second Edition. *Mycobacterium bovis*. 2012.

GUANILO U. T. L. D. C. M.; TAKAHASHI F. R.; BERTOLOZZI R. M. Revisão sistemática: noções gerais. **Revista da escola de enfermagem da Universidade de São Paulo**. Vol 45, n. 5, p. 1255-1261. São Paulo. 2011.

GUEDES B. I.; BOTTENE N. F. I.; MONTEIRO C. R. A. L.; FILHO L. M. J.; HEINEMANN B. M.; AMAKU M.; FILHO G. H. H. J.; DIAS A. R.; FERREIRA F.; TELLES O. E.; GONÇALVES P. S. V.; NETO F. S. J. Prevalência e fatores de riscos para tuberculose bovina no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3579-3588, 2016.

GUINDI, S. M.; AHMED, O. L.; AWAD, W. M.; EL-SABAN, M. S. Incidence of bovine and human tubercle bacilli in milk and milk products. **Agricultural Research Review**, Egypt, v. 58, p. 75-87, 1982.

HEWINSON, R. G.; VORDERMEIER, H. M.; BUDDLE, B. M. Use of the bovine model of tuberculosis for development improved vaccines and diagnostics. **Tuberculosis Journal**, [S.I.], v. 83, p. 119-130, Feb. 2003.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **PPM 2014: rebanho bovino alcança 212,3 milhões de cabeças**. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/10086-ppm-2014-rebanho-bovino-alcanca-212-3-milhoes-de-cabecas.html>>. Acesso em 20 de out. de 2017

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. **Pesquisa estuda o período de maturação do queijo minas artesanal da serra do salitre**. Minas Gerais, 2017. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br/acontece-no-ima/2121-pesquisa-estuda-o-periodo-de-maturacao-do-queijo-minas-artesanal-da-serra-do-salitre>>. Acesso em: 08 de nov. de 2017.

KASTLI, P.; BINZ, M. The viability of Mycobacterium tuberculosis in various types of cheese. **The science of dairy products** (Die Milchwissenschaft), [S.I.], cap. 11, p. 391-394, 1949.

KLEEBERG, H. H. Human tuberculosis of bovine origin in relation to public health. **Revue Scientifique et Technique** - Office International des Epizooties, South Africa, v. 3, p. 11-32, 1984.

KONGO, J. M.; GOMES, A. P.; MALCATA, F. X. Monitoring and identification of bactéria associated with safety concerns in the manufacture São Jorge, a Portuguese traditional cheese from raw cow's milk. **Journal of Food Protection**, [S.I.], v. 71, n. 5, p.986-992, May, 2008.

LIENISTEA, C.; ETTINGER, V.; CHINTESCU, G. Viability of Mycobacterium tuberculosis var bovis in butter. **Microbiologia, Parasitologia e Epidemiologia**, [S.I.], v. 9, p. 441-444, 1964.

Linde K., Willich SN. How objective are systematic reviews? Differences between reviews on complementary medicine. **Journal of Royal Society Medicine**. 96 (1), pag. 17-22, 2003.

MENZIES F. D.; NEIL S. D. Cattle to cattle transmission of bovine tuberculosis. **Veterinary Journal**, 160 (2), pag. 92-106. Londres, Inglaterra. 2000.

MICHEL, A. L.; GEOGHEGAN, C.; HLOKWE, T.; RASELEKA, K.; GETZ, W. M.; MARCOTTY, T. Longevity of Mycobacterium bovis in Raw and Traditional Souring Milk as a Function of Storage Temperature and Dose. **PlosOne**, [S.I.], v. 10, n.6, Jun. 2015.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 14.185 de 31 de janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção de Queijos Minas artesanais. **Minas Gerais Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 01 de fev. 2002. Col. 2, p.3.

MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 20.549 de 18 de dezembro de 2012 (altera a lei n. 14.185 de 31/01/2002). Dispõe sobre o processo de produção e comercialização dos Queijos Minas artesanais de Minas Gerais. **Minas Gerais Diário do Executivo**, Belo Horizonte, 19 de dez. 2012. Col.2, p.1.

MINAS GERAIS. Portaria n. 1305 de 30 de abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do Queijo Minas Artesanal. **Instituto Mineiro de Agropecuária**, Belo Horizonte, MG, 2013.

MINAS GERAIS. Portaria n. 818, de 12 de dezembro de 2006. Regulamento técnico de produção do queijo Minas artesanal. **Instituto Mineiro de Agropecuária**, Belo Horizonte, MG, 2006.

MINAS GERAIS. Portaria n. 1436, 26 de setembro de 2014. Dispõe sobre a inclusão de estabelecimentos de produtos de origem animal no Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Instituto Mineiro de Agropecuária**, Belo Horizonte, MG, 2014.

MOTA, P.M.P. C.; NAKAJIMA, M. Tuberculose bovina. In: CHARLES, T. P.; FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos**. EMBRAPA – CNPGL. [S.I.], p. 97-122, 1992.

NORTHOLT, M. D. Pathogenic micro-organism in fermented dairy products. *Neth. MilkDairyJournal*, [S.I.], v. 37, p. 247-248, 1983.

OLIVEIRA, H. B.; MOREIRA FILHO, D. C. Recidivas em tuberculose e seus fatores de risco. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, [S.I.], v. 7, n. 4, Abr. 2000.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Codex Alimentarius**: Higiene dos Alimentos – Textos Básicos, Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2006. 64 p.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Perspectivas sobre a análise de risco na segurança dos alimentos**. In: CURSO DE SENSIBILIZAÇÃO, Rio de Janeiro, 2008. 160 p.

Palisade Corporation. Nova Iorque. Software @Risk, Versão 7.5. sd.

QUEIROZ, R. M.; GROFF, M. C. A.; SILVA, S.N.; FILHO, G. H. H. J.; AMAKU, M.; DIAS, A. R.; TELLES, O. E.; HEINEMANN, B. M.; NETO, F. S. J.; GONÇALVES, P. S. V.; FERREIRA, F. Situação epidemiológica da tuberculose bovina no estado do Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3647-3658, 2016.

RIBEIRO, A. L.; GONÇALVES, P. S. V.; FRANCISCO, C. F. P.; MOTA, A. A. L. A.; NASCIMENTO, T. G.; LICURGO, B. J.; FERREIRA, F.; FILHO, G. H. H. J.; NETO F. S. J., AMAKU M., DIAS A. R., TELLES O. E., HEINEMANN B. M., BORGES, J. R. J. Situação epidemiológica da tuberculose bovina no distrito federal. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3561-3566, 2016.

ROSEMBERGER, G. **Enfermedades de los bovinos**. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1983. v. 2, p. 139-151.

RAO M., STREUR T.L., ALDWELL F.E., COOK. G.M. Intracellular pH regulation by *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium bovis* BCG. *Journal of Bacteriology*. [S.I.] v. 147, ed. 4, p. 1017-1024. Abril. 2001.

ROWE, M. T.; DONAGHY, J. *Mycobacterium bovis*: the importance of milk and dairy products as a cause of human tuberculosis in the UK. A review of taxonomy and culture methods, with particular reference to artisanal cheeses. **International Journal of Dairy Technology**, [S.I.], v. 61, n. 4, p. 317–326, 2008.

SAMPAIO R. F.; MANCINI M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Revista brasileira de fisioterapia**, vol. 11, n. 1, p. 83-89. 2007

SINHA, R. N. Chapter 11: *Mycobacterium bovis*. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. **The significance of pathogenic microorganisms in raw milk**. Brussels, Belgium: IDF/FIL, 1994. p. 141-166.

SPSS Inc. **SPSS Statistics for Windows**. Released 2008. Version 17.0. Chicago: SPSS Inc.

STARIKOFF, R.K., FONTANESI D. C., MACIEL M. F., IKUTA Y. C., FERREIRA F., NETO F. S. J., DIAS A. R., AMAKU M., CORTEZ A., HEINEMANN B. MARCOS, FILHO G. H. H. J., GONÇALVES P. S. V., SILVA F. H. P., PAULA J. C. J., TELLES O. E. Decaimento do *Mycobacterium bovis* e da *Brucella abortus* durante cura do queijo tipo parmesão experimentalmente contaminado. **Semina: Ciências Agrárias**. Londrina, vol. 37, n. 5, suplemento 2, p. 3743-33758, 2016.

THOEN, C.; LOBUE, P.; KANTOR, I. The importance of *Mycobacterium bovis* as a zoonosis. **Veterinary Microbiology**, [S.I.], v. 112, p. 339-345, Feb. 2006.

VANDAL, O.H., NATHAN C.F., EHRT S. Acid resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. **Journal of Bacteriology**. [S.I.] v. 191, ed. 15, p. 4714-4721. Maio. 2009.

WHITING, R. C.; BUCHANAN, R. L. Development of a quantitative risk assessment model for *Salmonella enteritidis* in pasteurized liquid eggs. **International Journal of Food Microbiology**, [S.I.], v. 36, issues 2-3, p. 111–125, May 1997.

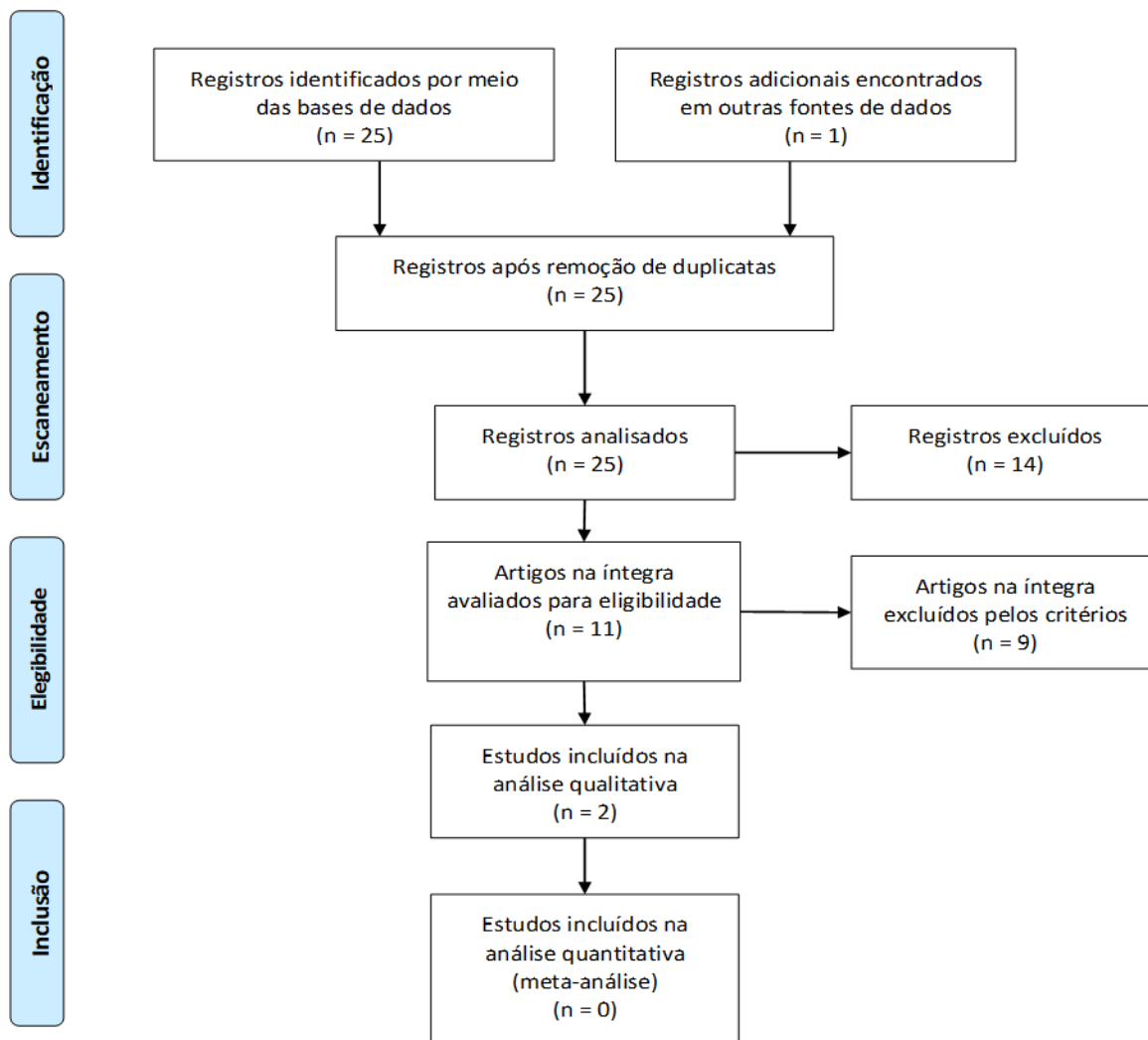
Wilson, G. S. **The Pasteurization of Milk**. Londres: Edward Arnold & Co, p.212 1948.

ANEXOS

ANEXO I – Frequência de eliminação do *M. bovis*. no leite



PRISMA 2009 Flow Diagram – Frequência de eliminação do *Mycobacterium bovis* no leite

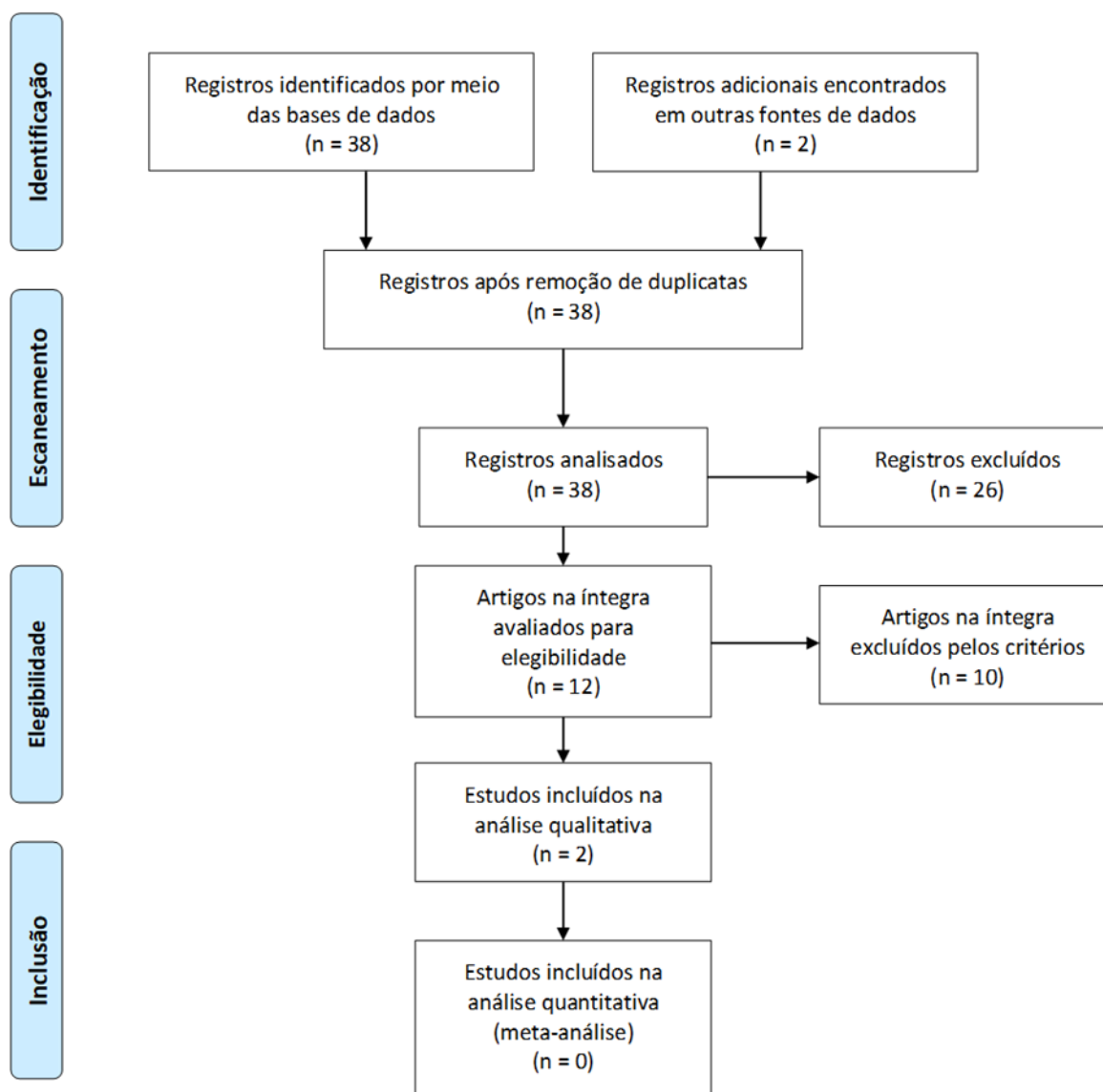


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO II – Carga de *M. bovis*. eliminada no leite



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – Carga de *Mycobacterium bovis* eliminada no leite

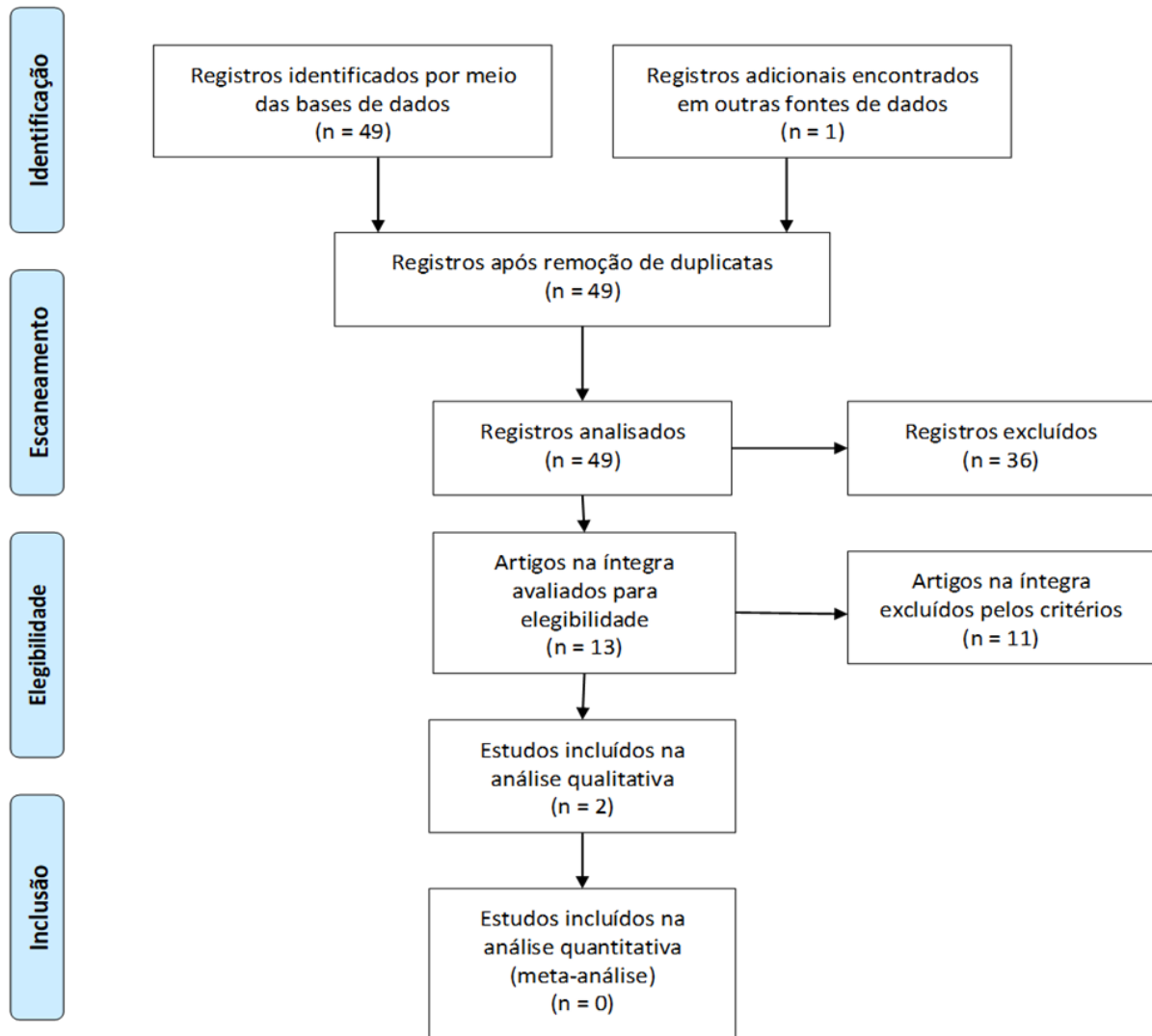


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO III – Sobrevivência do *M. bovis*. no leite



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – Sobrevivência do *Mycobacterium bovis* no leite

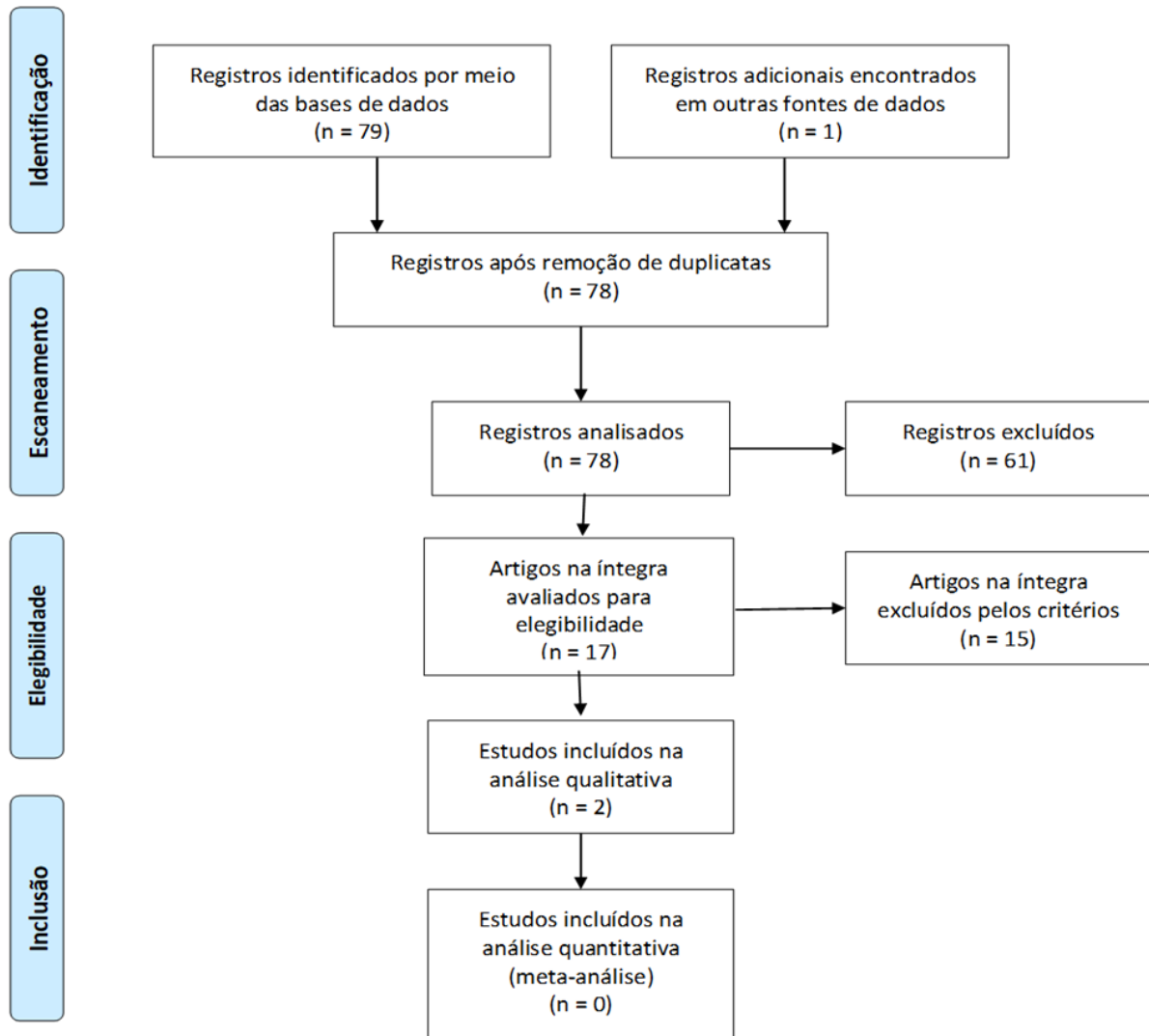


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO IV – Temperatura de multiplicação do *M. bovis*. no leite



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – Temperatura de multiplicação do *Mycobacterium bovis* no leite

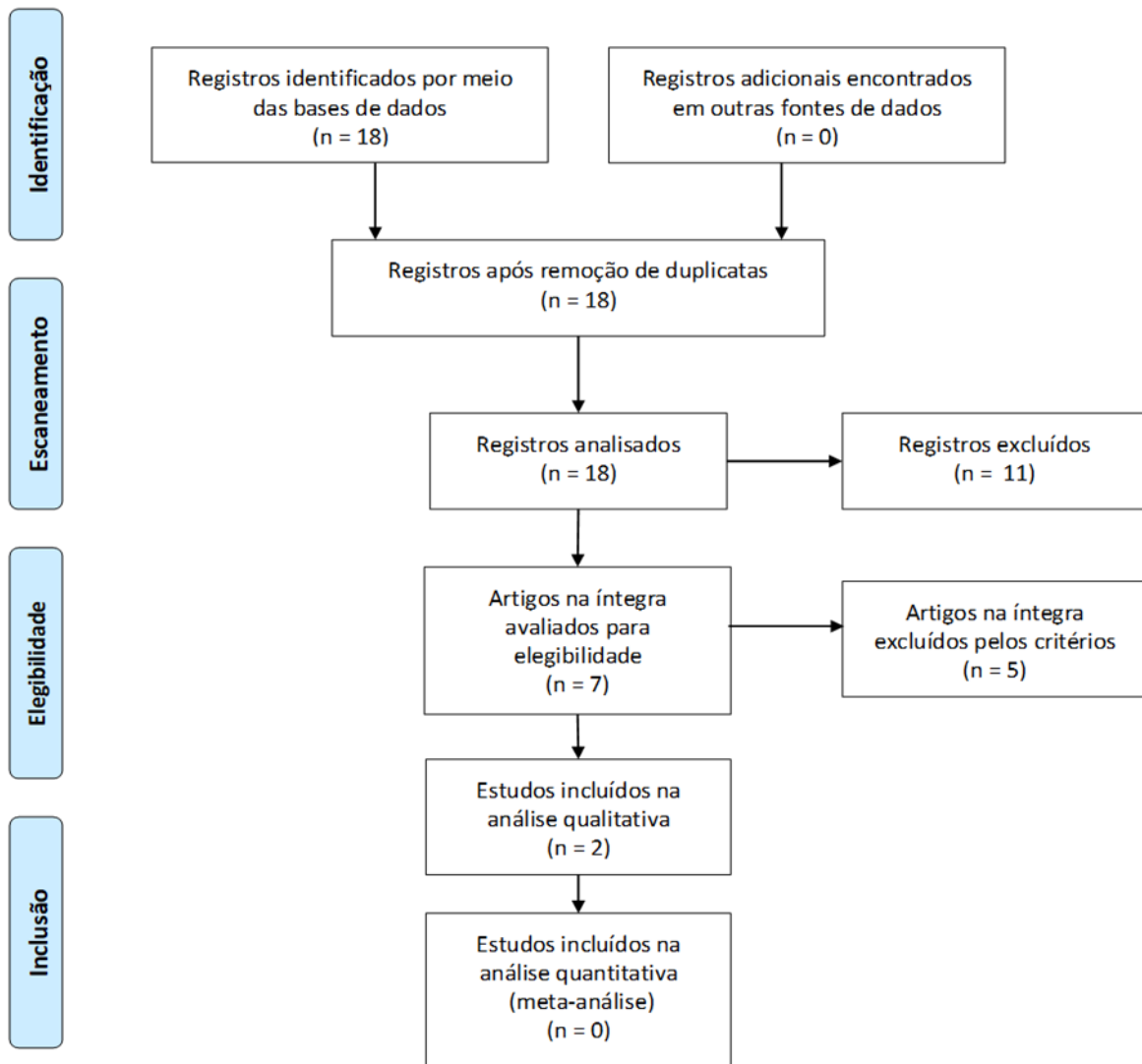


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO V – Dose infectante humana



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – Dose infectante humana

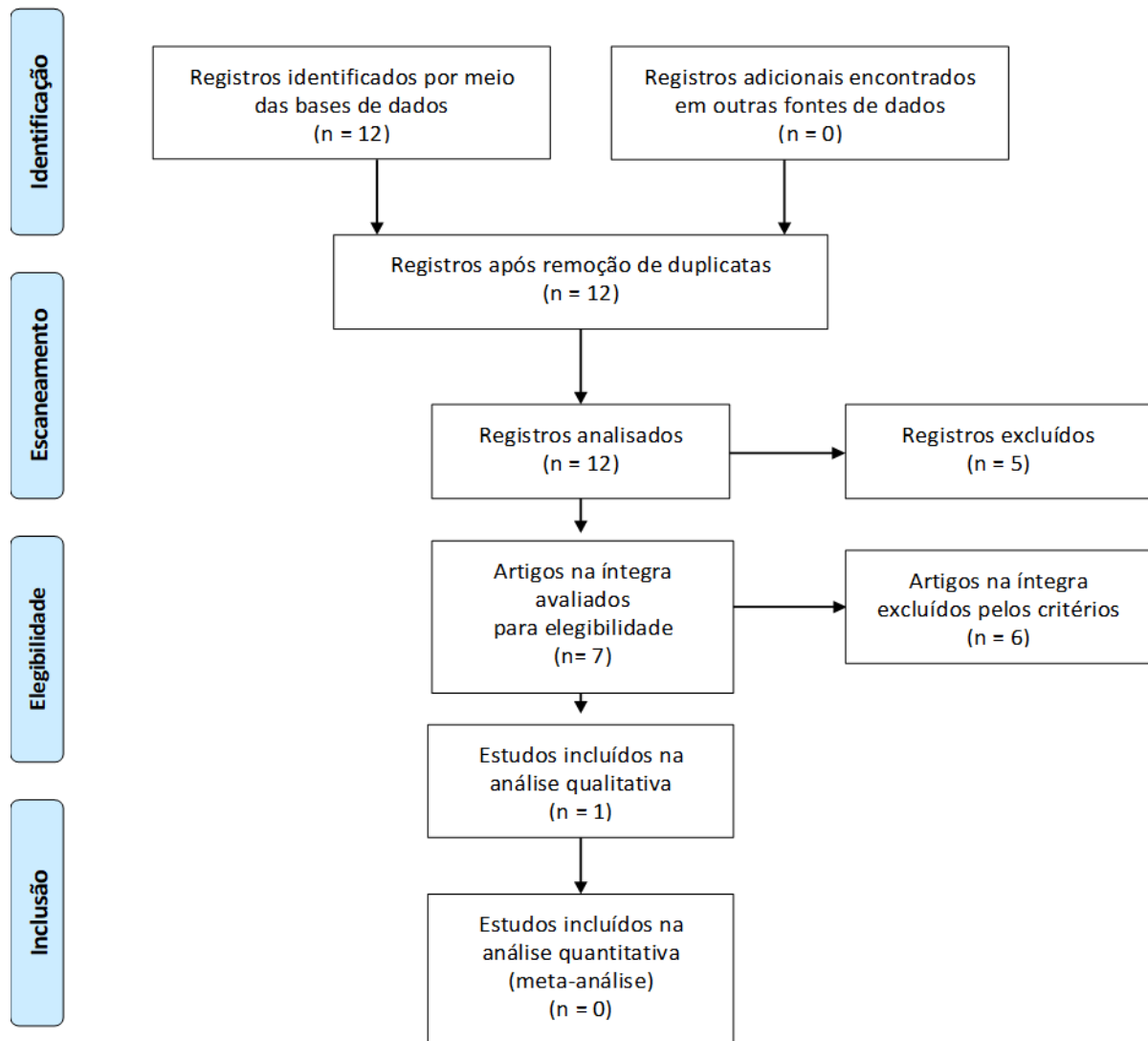


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO VI – pH de sobrevivência do *M. bovis*.



PRISMA 2009 Diagrama de Fluxo – pH de sobrevivência do *Mycobacterium bovis*

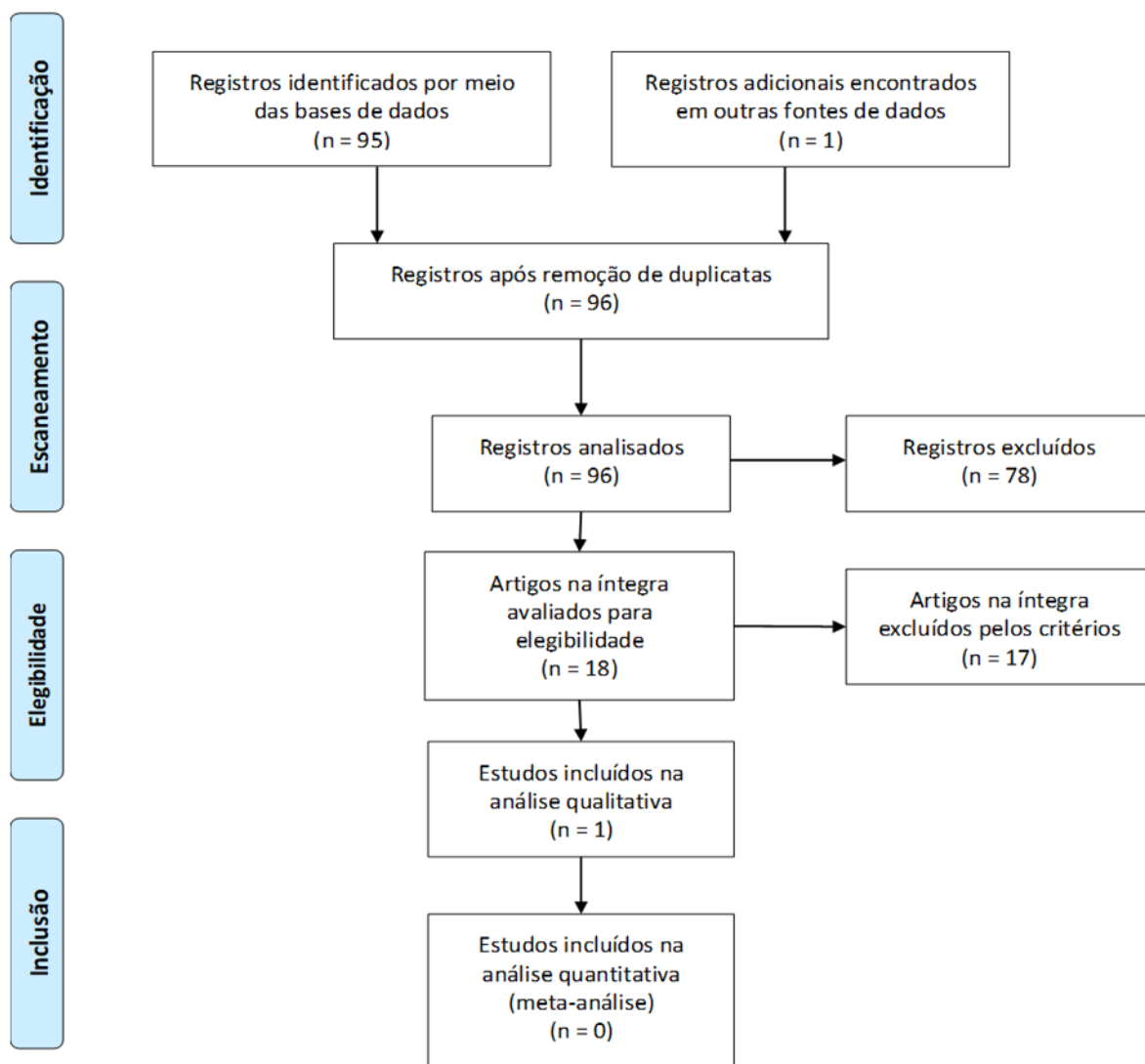


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO VII – pH ideal para crescimento do *M. bovis*.



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – pH ideal para crescimento do *Mycobacterium bovis*

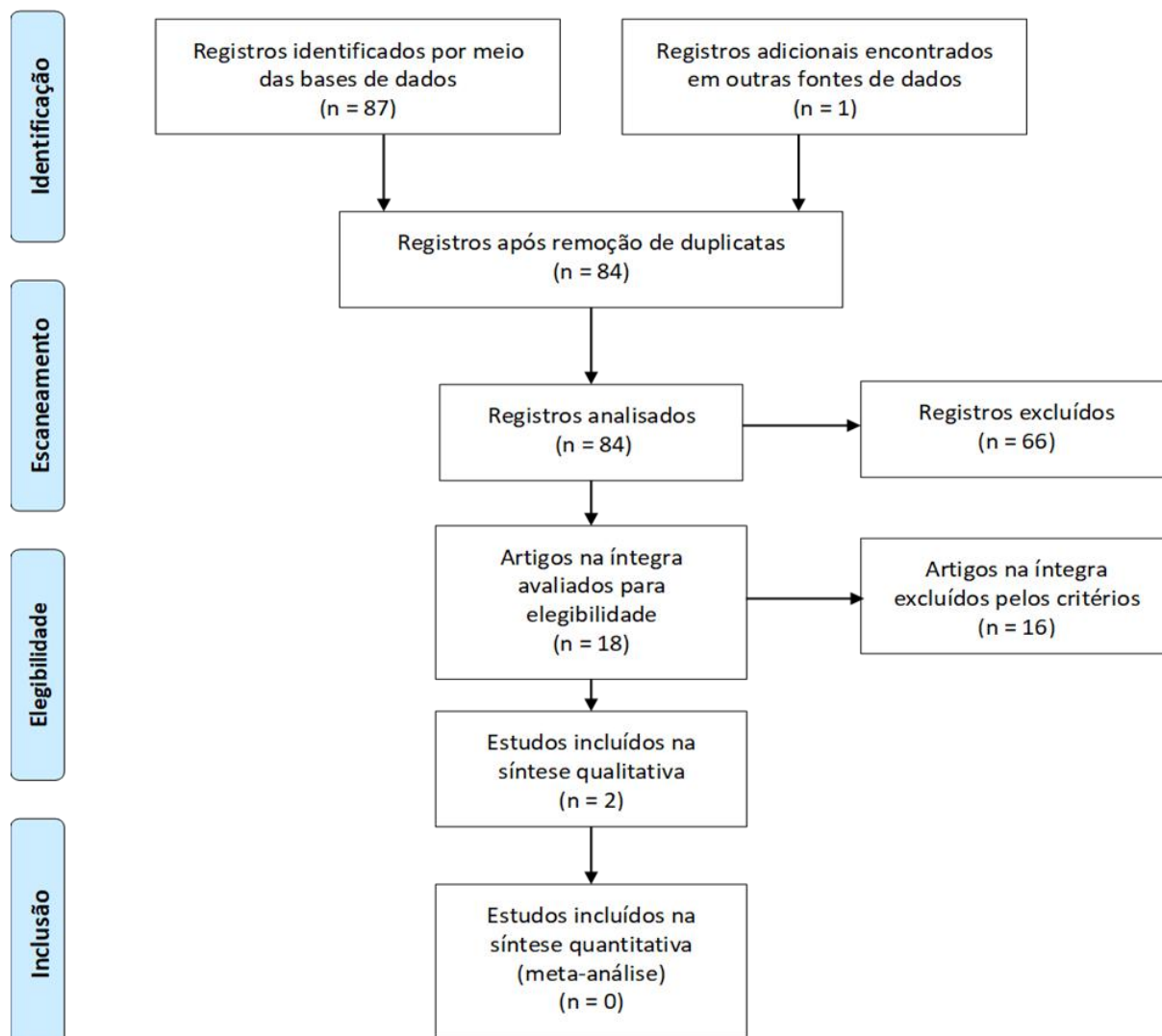


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO VIII – Alteração da carga de *M. bovis*. pela transformação leite em queijo



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo – Alteração da carga de *Mycobacterium bovis* pela transformação leite em queijo

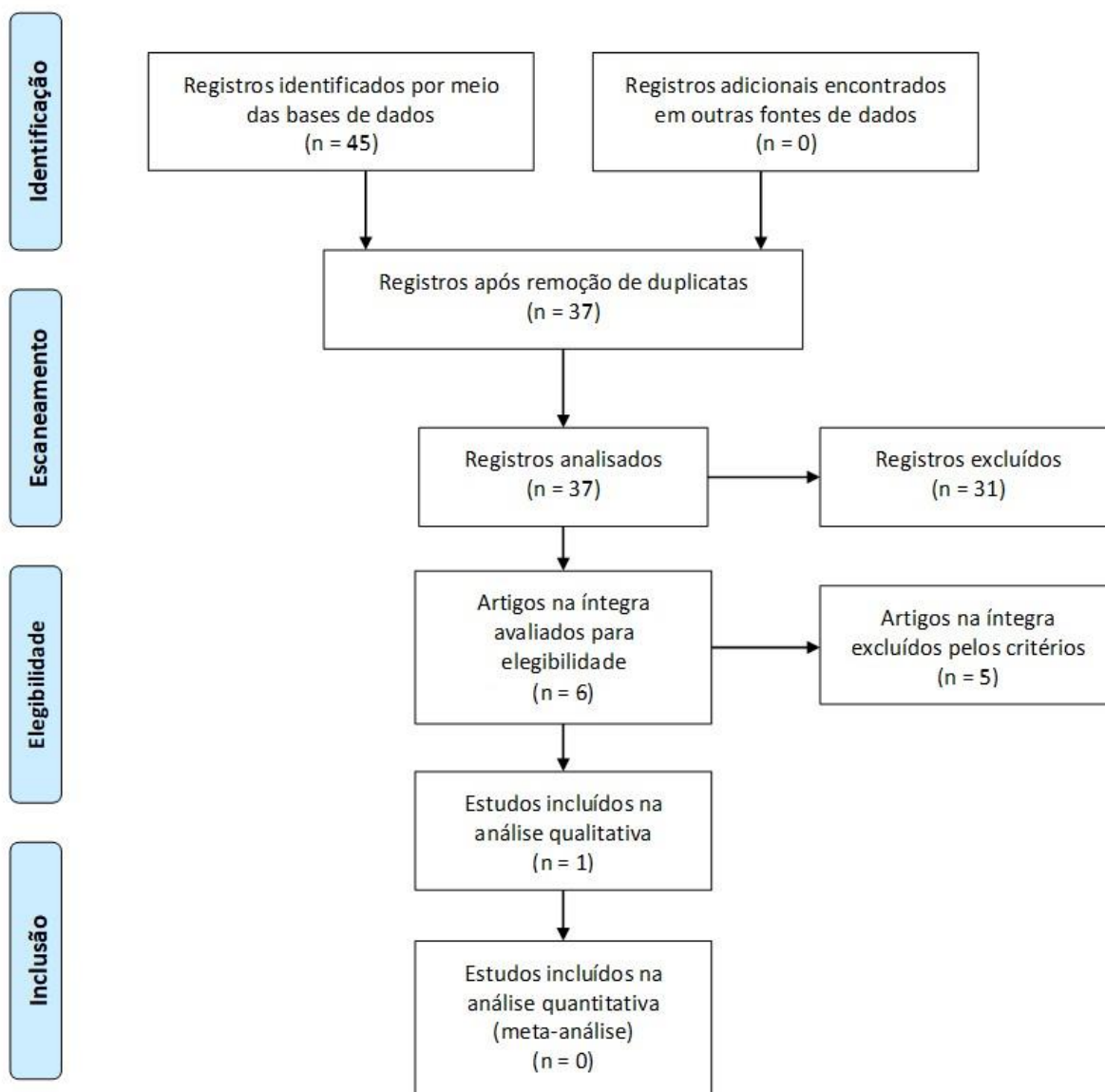


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO IX – Bacteriocinas



PRISMA 2009 Diagrama de fluxo - Bacteriocinas

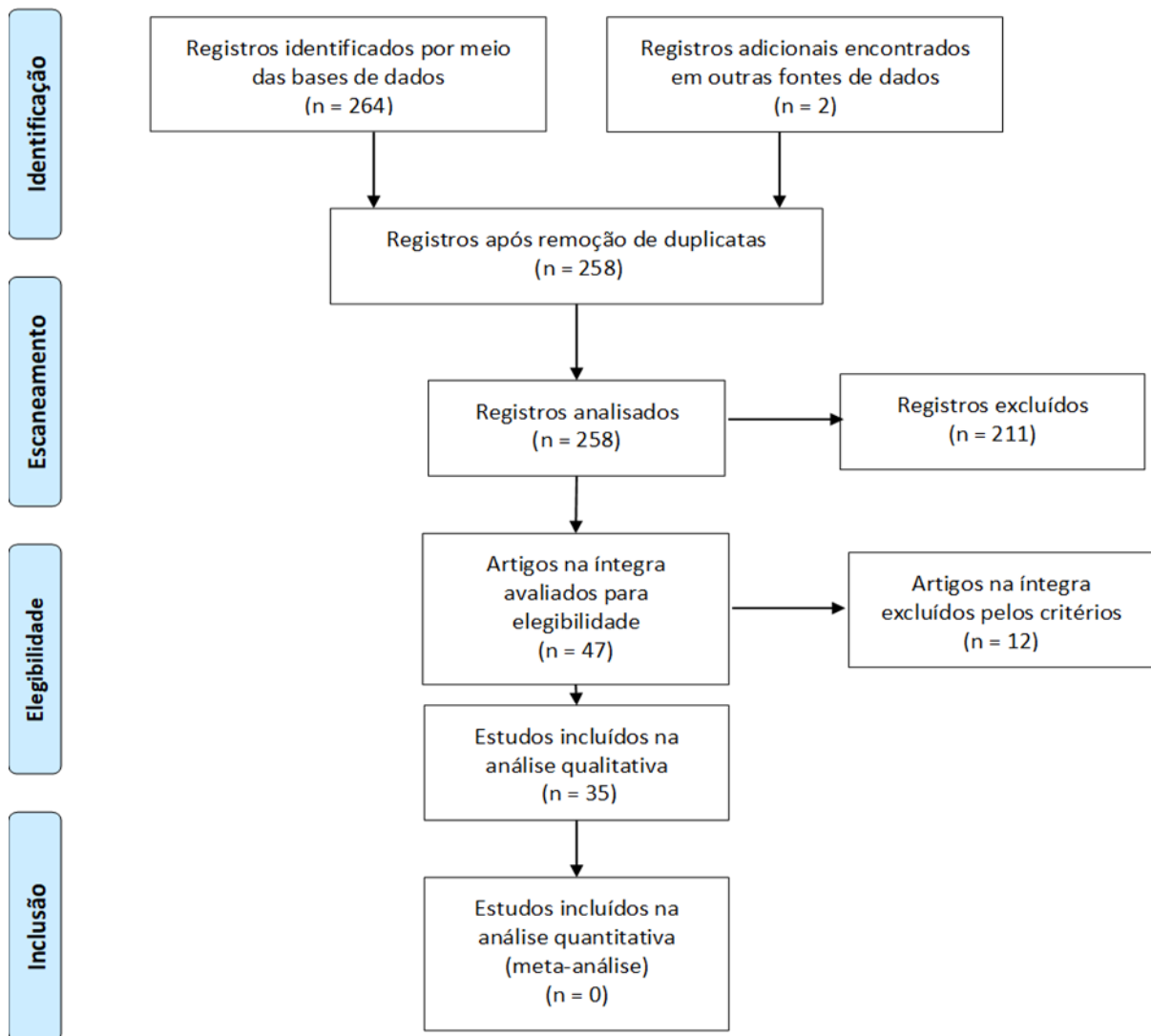


Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.

ANEXO X – Análise de risco de *M. bovis*. no leite



PRISMA 2009 Diagrama de Fluxo – Análise de risco de *Mycobacterium bovis* no leite



Fonte: Adaptado de Prisma Statement, 2009.