

ASSOCIAÇÃO ENTRE LÁCTEOS NÃO PASTEURIZADOS/PECUÁRIA/AGROINDÚSTRIA E INFECÇÕES HUMANAS POR *MYCOBACTERIUM BOVIS* NO BRASIL: UM CASO-CONTROLE ANINHADO

ASSOCIATION BETWEEN DAIRY UNPASTEURIZED/LIVESTOCK/AGROINDUSTRY AND HUMAN INFECTIONS BY *MYCOBACTERIUM BOVIS* IN BRAZIL: A NESTED CASE-CONTROL

Marcio Roberto Silva^I, Adalgiza da Silva Rocha^{II}, Andrea Padilha de Alencar^{III}, Philip Noel Suffys^{II}

^IEmbrapa Gado de Leite. Juiz de Fora, Brasil.

^{II}Laboratório Biologia Molecular Aplicada a Micobactérias. Fiocruz. Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^{III}Laboratório Nacional Agropecuário. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Pedro Leopoldo, MG, Brasil

Palavras chave: *Mycobacterium bovis*, lácteos não pasteurizados, pecuária/agroindústria.

Introdução

Mycobacterium bovis, uma espécie de bactéria do complexo *Mycobacterium tuberculosis*, é um patógeno que primariamente infecta bovinos. Entretanto, seres humanos também podem ser acometidos, mais comumente por meio do consumo de produtos lácteos não pasteurizados provenientes de vacas infectadas, mas também por meio de aerossóis contaminados provenientes de bovinos ou outros animais com tuberculose pulmonar ou presentes em ambientes de matança de animais. Em nações industrializadas a tuberculose (TB) humana causada por *M. bovis* (zoonótica) é rara devido à pasteurização e descarte de rebanhos de gado infectados (Kleeberg, 1984). O presente trabalho teve como objetivo avaliar possíveis fatores associados a co-infecções de *M. bovis* por meio de um estudo de caso-controle aninhado em um corte transversal implementado em dois centros de saúde de Minas Gerais, Brasil, de março/2008 a fevereiro/2010, sendo as espécies de micobactérias envolvidas em 191 pacientes com TB caracterizadas por métodos bioquímicos e/ou moleculares. Destes 191, 184 (96,4%), 3 (1,5%), 2 (1,0%) e 2 (1,0%) tiveram confirmadas infecções por *Mycobacterium tuberculosis*, co-infecções por *M. bovis*-*M. tuberculosis*, co-infecções por *M. avium*-*M. tuberculosis* e infecções por *M. avium*, respectivamente.

Material e métodos

Evento. O evento estudado foi a co-infecção por *M. bovis*. As micobactérias envolvidas em casos de tuberculose (TB) foram caracterizadas por métodos bioquímicos (KENT & KUBICA, 1985) e/ou técnicas moleculares, entre elas: extração de DNA (VAN EMBDEN et al., 1993); amplificação do gene *pncA* (SCORPIO & ZHANG, 1996) e detecção de possíveis mutações na posição 169, por análise de restrição (BAROUNI et al., 2004); amplificação do pseudogene *oxyR* e detecção de possíveis mutações na posição 285, por análise de restrição ou sequenciamento do DNA (SREEVATSAN et al., 1996). **Seleção dos casos.** Foram incluídas as três co-infecções de *M. bovis* detectadas. **Seleção dos controles.** Foram incluídos 15 controles (TB por *M. tuberculosis*) por cada caso, pareados por sexo, faixa etária (ponto de corte 38 anos de idade). Deve ser ressaltado que uma importante variável intrínseca de pareamento dos controles neste estudo foi o tipo semelhante de agravo (TB). **Variável explicativa principal.** A principal variável explicativa avaliada para a co-infecção por *M. bovis* foi a "exposição zoonótica", uma variável dicotômica construída a partir de outras três variáveis: consumo atual de queijo não-pasteurizado cru, consumo atual de leite não-pasteurizado cru e histórico de ocupações relacionadas à pecuária (bovina, caprina e suína) e respectivas agroindústrias de alimentos de origem animal. **Coleta de dados relativos à exposição.** Foram utilizados questionários estruturados na coleta de dados e os participantes foram entrevistados. **Análise dos dados.** Os fatores associados com a co-infecção por *M. bovis* foram avaliados usando modelos univariados de regressão logística. As diferenças nas proporções foram acessadas usando testes de Qui-quadrado ou exato de Fisher e a magnitude das associações foram estimadas por *Odds Ratio* (OR) com intervalo de confiança de 95%. O nível de significância foi 0,05. As análises foram realizadas utilizando o "software" Epi Info. Quando o valor de uma das células da tabela 2x2 fosse zero, usou-se a correção de Haldane para calcular a *Odds Ratio* (OR). **Ética.** O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (protocolo 819.125.2006) e da Fundação Hospitalar de Minas Gerais (protocolo 52/08).

Resultados e discussão

Entre os 48 participantes, a maioria (66,7%) apresentava idade menor ou igual a 38 anos (variação de 17-70) e era do sexo feminino. Todos os participantes eram de Minas Gerais,

SP 5403
P. 170

sendo 44 (91,7%) de Juiz de Fora. Apenas três (6,3%) dos participantes tinham histórico de morar no meio rural, mas 16 (33,3%) tiveram histórico de exposição zoonótica. Uma parcela considerável de 12 (25%) participantes não possuía marca de vacina BCG, mas 34 (70,8%) possuíam e apenas em 2 (4,2%) a vacina BCG foi ignorada. A maioria (38) dos participantes (79,2%) era negativa para HIV, incluindo os três casos de TB zoonótica, apenas três (6,3%) eram positivos para HIV e parcela considerável (14,6%) teve o exame para HIV ignorado. A variável "exposição zoonótica" teve associação ($p \leq 0,05$) com TB zoonótica (OR=16,85; IC 95% = 0,64-275,18). Todos os casos de TB zoonótica (100%) tiveram alguma possibilidade de exposição zoonótica, dois por consumo de queijo artesanal cru e um por ter ocupação relacionada (criação de cabras e açougue). Entre os 45 controles, 13 (28,9%) tiveram alguma possibilidade de exposição zoonótica. A TB zoonótica esteve mais associada ($p \leq 0,05$) a formas de TB extra pulmonares (OR=16,00; IC 95%=1,21-209,94). Em concordância com os resultados do presente estudo, as exposições mais frequentemente relatadas em pessoas com TB por *M. bovis* em outros trabalhos incluíram consumo regular de produtos lácteos crus e contato freqüente com bovinos. Historicamente, o consumo de leite e derivados não pasteurizados foram os principais veículos de transmissão de *M. bovis* a seres humanos, ocasionando manifestações principalmente extra pulmonares e crianças foram particularmente susceptíveis, sendo uma vez dito que "TB em crianças é igual a TB em bovinos" (KLEEBERG, 1984).

Conclusões: Co-infecções de *M. bovis* associadas a exposições zoonóticas foram evidenciadas em adultos de cidade com população predominantemente urbana no Brasil.

Referências bibliográficas

- KLEEBERG, H. H. Human tuberculosis of bovine origin in relation to public health. *Review of the Science and Technology of Official International Epizoonosis*, v.3, p.11-32, 1984.
- KENT, P. T.; KUBICA, G. P. *Public Health Mycobacteriology: a guide for the level III laboratory*. Atlanta: Centers for Disease Control, 1985.
- VAN EMBDEN, J. D. A.; CAVE, M. D.; CRAWFORD, J. T.; DALE, J. W.; EISENACH, K. D. GICQUEL, B.; HERMANS, P. W. M.; MARTAIN, C.; MCADAM, R.; SHINNICK, T. M.; SMALL, P. M. Strain identification of *Mycobacterium tuberculosis* by DNA fingerprinting: recommendation for a standardized methodology. *J Clin Microbiol*, v. 31, p. 406-409, 1993.
- SCORPIO, A.; ZHANG, Y. Mutations in *pncA*, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus. *Nat Med*, v. 2, p. 635-6, 1996.
- BAROUNI, A. S.; AUGUSTO, C. J.; LOPES, M. T.; ZANINI, M. S.; SALAS, C. E. A *pncA* polymorphism to differentiate between *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis*. *Mol Cell Probes*, v. 18, p. 167-70, 2004.
- SREEVATSAN, S.; ESCALANTE, P.; PAN, X.; GILLIES, D. A.; SIDDIQUI, S.; KHALAF, C. N.; KREISWIRTH, B. N.; BIFANI, P.; ADAMS, L. G.; FICHT, T.; PERUMAALLA, V. S.; CAVE, M. D.; VAN EMBDEN, J. D. A.; MUSSER, J. M. Identification of a polymorphic nucleotide in *oxyR* specific for *Mycobacterium bovis*. *J Clin Microbiol*, v. 34, p. 2007-2010, 1996.

Autor a ser contactado: Marcio Roberto Silva. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora – e-mail: mrsilva@cnpqgl.embrapa.br