



Universidade Federal
de Campina Grande

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**COMPORTAMENTO DA TUBERCULOSE HUMANA NO RIO GRANDE DO NORTE
E PESQUISA DE *Mycobacterium* spp. EM QUEIJOS DE COALHO
COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAICÓ-RN, BRASIL.**

GIOVANNI BRITO MEDEIROS

Patos-PB, Brasil
Fevereiro de 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**COMPORTAMENTO DA TUBERCULOSE HUMANA NO RIO GRANDE DO NORTE
E PESQUISA DE *Mycobacterium* spp. EM QUEIJOS DE COALHO
COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAICÓ-RN, BRASIL.**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Campina
Grande, Centro de Saúde e Tecnologia
Rural, como parte das exigências para
a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal.

GIOVANNI BRITO MEDEIROS

Onaldo Guedes Rodrigues (ORIENTADOR);
Severino Silvano dos Santos Higino (CO-ORIENTADOR).

Patos-PB, Brasil
Fevereiro de 2019.

M488c Medeiros, Giovanni Brito.

Comportamento da tuberculose humana no rio Grande do Norte (RN) e pesquisa de mycobacterium spp. em queijos de coalho comercializados no Município de Caicó – RN, Brasil. / Giovanni Brito Medeiros. – Patos - PB: [s.n], 2019.

54 f. : il. Color.

Orientador: Professor Dr. Onaldo Guedes Rodrigues.
Coorientador: Professor Dr. Severino Silvano dos Santos Higino.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Saúde e Tecnologia Rural; Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal.

1. Mycobacterium spp. 2. Tuberculose humana. 3. Queijo de coalho – Caicó - RN. 4. Microbactérias não tuberculosas. I. Rodrigues, Onaldo Guedes. II. Higino, Severino Silvano dos Santos. III. Título.

CDU: 579.873.2+616-002.5(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

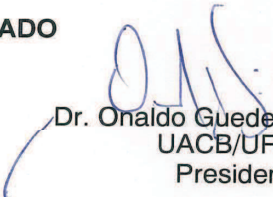
TÍTULO: “Comportamento da tuberculose humana no Rio Grande do Norte e pesquisa de *Mycobacterium* spp. em queijos de coalho comercializados no município de Caicó-RN, Brasil”


AUTOR: Giovanni Brito de Medeiros

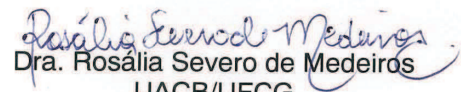
ORIENTADOR: Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

JULGAMENTO


CONCEITO: APROVADO


Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
UACB/UFCG
Presidente


Dr. Flábio Ribeiro de Araújo
CNCG/EMBRAPA
1º Examinador


Dra. Rosália Severo de Medeiros
UACB/UFCG
2º Examinador

Patos - PB, 22 de fevereiro de 2019


Prof. Dr. José Fábio Paulino de Moura
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCG
Coordenador PPGCA/CSTR/UFCG
DE 1506999
Coordenador

(2º Membro)

AGRADECIMENTOS

A DEUS, pelo dom da vida e pelas oportunidades que o mesmo tem colocado em meu caminho.

A meus pais (*in memoriam*) e irmãos, pela família constituída e respeito mútuo entre nós; e também pelo estímulo ao conhecimento.

A minha esposa, amiga, companheira Maria da Paz Medeiros (Aninha) por todo apoio e paciência e, de forma especial, a nossa filha Laurinha.

À UFCG, por mais uma vez me proporcionar este aperfeiçoamento profissional.

Ao professor, orientador e amigo, Onaldo Guedes Rodrigues por ter acreditado e me recebido como orientando nesta jornada.

A José de Arimateia Cruz Guedes, nosso “Ari”, pela disposição de sempre facilitar a nossa vida burocrática junto ao Programa.

Aos demais professores e colegas de Curso deste Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela convivência e conhecimentos adquiridos.

À EMBRAPA Campo Grande-MS (CNGC), especialmente ao Dr. Flávio Araújo pela acolhida e pela infraestrutura disponibilizada à execução desta Pesquisa; e, de forma especial, a Gisele Olivas de Campos Leguizamon pelo valoroso suporte técnico prestado.

Aos demais amigos, principalmente a Durval Moraes pelo companheirismo e convivência profissional; e Pirajá, por termos compartilhado juntos quase toda a programação deste mestrado

E minha eterna gratidão a todos que, direta ou indiretamente, participaram na realização desta conquista.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	x
INTRODUÇÃO GERAL	13
REFERÊNCIAS	15

CAPÍTULO I

COMPORTAMENTO DA TUBERCULOSE HUMANA NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL, ENTRE 2008 E 2017	16
RESUMO	17
ABSTRACT	17
INTRODUÇÃO	18
MATERIAL E MÉTODOS	21
Tipo de Estudo	21
Fonte dos dados	21
Estudo descritivo	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

CAPÍTULO II

PESQUISA DE MYCOBACTERIUM SPP. EM QUEIJOS DE COALHO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAICÓ, RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL	27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	29
MATERIAL E MÉTODOS	32
Amostragem	32
Extração de DNA de queijo de coalho para PCR convencional	32
Nested-PCR para detecção direta do complexo M. tuberculosis (CMT) em queijos de coalho	33
Cultivo bacteriano (Stonebrink)	34
Extração de DNA do cultivo Stonebrink	35
PCR para identificação de isolados bacterianos, obtidos em meio Stonebrink	35
RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
CONCLUSÕES	40
AGRADECIMENTOS	41
CONFLITOS DE INTERESSE	41
REFERÊNCIAS	41
CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
ANEXOS.	46
Anexo 01 – Normas da Revista ACSA	47
Anexo 02 – Sinopse de submissão de Artigo à Revista ACSA	49
Anexo 03 – Normas da Revista Ciência Rural	51
Anexo 04 – Código de submissão de Artigo à revista Ciência Rural	54

RESUMO

COMPORTAMENTO DA TUBERCULOSE HUMANA NO RIO GRANDE DO NORTE (RN) E PESQUISA DE *Mycobacterium* spp. EM QUEIJOS DE COALHO COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAICÓ-RN, BRASIL.

A tuberculose (Tb) é mundialmente uma das 10 principais causas de morte humana e é tida como a principal causadora de óbitos por um único agente infeccioso. As Américas representam 3% da prevalência mundial da doença e se atribui que 33% dos casos notificados neste continente são no Brasil. Esse, é um dos 22 países priorizados pela OMS, que juntos representam 80% da ocorrência mundial desta bacteriose. Uma das formas da doença é a Tuberculose zoonótica, cujo agente causador é o *M. bovis*, cuja principal via de transmissão para a população humana é por meio do consumo de leite e derivados (queijos e iogurtes) elaborados sem a adoção de Boas Práticas Agropecuárias (BPAs) e de Fabricação (BPFs). O presente trabalho disserta sobre dois assuntos: No Capítulo primeiro, aborda-se o comportamento da tuberculose humana no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, no período de 2008 a 2017, por meio de estudos descritivo e retrospectivo, avaliando-se a incidência anual da tuberculose no Estado e ocorrência de suas formas clínicas. Utilizamos dados primários obtidos junto ao Programa de Tuberculose no Rio Grande do Norte – SUVIGE/SESAP-RN (fazer a mesma descrição que vc fez acima com BPAs); e de dados secundários, colhidos junto ao Sinan/Ministério da Saúde. Como resultado, observou-se haver divergência entre os coeficientes de incidência calculados com os dados primários daqueles que estão publicados em Boletins Epidemiológicos: 37,1 a 27,0, por grupo de 100 mil hab; além disso, a doença apresentou tendência linear de crescimento no Rio Grande do Norte. Recomendado-se medidas amplas de proteção à população e ao meio ambiente, associadas ao fortalecimento dos serviços de saúde para que se consiga atingir as metas propostas no programa End TB, sejam de controle e/ou de erradicação. O Capítulo seguinte, avaliou-se a qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Caicó-RN, pesquisando-se a presença de *Mycobacterium* spp. Por meio de cultivo bacteriano e diagnóstico molecular. Foram analisadas 50 amostras de queijo de coalho obtidas aleatoriamente no comércio local, sendo: 35 elaboradas a partir de leite cru (artesanal) e 15 com leite pasteurizado (industrializado), das quais se extraiu materiais que foram submetidos a processos: para obtenção de DNA; cultivo (Stonebrink); PCR convencional para pesquisa de *M. bovis*; e, finalmente, nested-PCR para *Mycobacterium* spp. Na pesquisa laboratorial, não se conseguiu isolar micobactérias tuberculosas nos queijos estudados. Porém, detectou-se que duas amostras (4%) apresentaram crescimento de micobactérias não tuberculosas (MNT) em meio de cultura, que através de diagnóstico molecular apresentaram identidade com *hsp65* de: *Mycobacterium lehmanii* (ID da sequência: KY933786.1, valor e: 2e-133, identidades: 312/363 [86%]); e *Mycobacterium rutilum* (ID da sequência: LT629971.1, valor e: 3e-108, identidades: 331/371 [89%]), apontando-se como indicativos de contaminação ambiental. Há na literatura resultados publicados sobre micobacterioses em humanos causadas por agentes com alta similaridade genética aos encontrados neste estudo, bem como infecções em tecidos animais. Conhecendo-se as características das MNT, considerando-as como microrganismos emergentes e de natureza ubíqua, sugere-se maior atenção na cadeia produtiva de queijos, tanto nas boas práticas agropecuárias (BPAs) quanto nas boas práticas de fabricação de alimentos (BPFs).

Palavras chave: *Mycobacterium* spp.; Tuberculose; Queijo de coalho; Rio Grande do Norte-Brasil; micobactérias não tuberculosas (MNT).

ABSTRACT

Behavior of human tuberculosis in the State of Rio Grande do Norte (RN) – Brazil, from 2008 to 2017, and Detection of *Mycobacterium* spp. in Coalho cheese commercialized in the city of Caicó-RN, Brazil.

Tuberculosis (TB) is one of the leading causes of human death and is one of the main death's culprit by a single infectious agent. The region of the Americas represents 3% of the world's disease, of which 33% are attributed to Brazil, what is one of the 22 countries prioritized by WHO, who together represent 80% of the world's occurrence by this microorganism. One of the forms of the disease on humans is zoonotic tuberculosis, which is caused by *Mycobacterium bovis*, and its main route of transmission to population is through the consumption of milk and dairy products (cheeses and yoghurts) prepared without the adoption of Good Agricultural Practices (GAPs) and Manufacturing (GMPs). In the first chapter, the behavior of human tuberculosis in the state of Rio Grande do Norte, Brazil, from 2008 to 2017, is analyzed through descriptive and retrospective studies, evaluating the annual incidence of tuberculosis in the State and occurrence of their clinical forms. The primary data obtained from the Tuberculosis Program in Rio Grande do Norte - SUVIGE / SESAP-RN were used; and secondary data collected from Sinan / Ministry of Health. As a result, there was a divergence between the incidence coefficients calculated with the primary data from those published in Epidemiological Bulletins: 37.1 to 27.0, per group of 100 thousand inhabitants; in addition, the disease showed a linear growth trend in Rio Grande do Norte. It is recommended that comprehensive measures be taken to protect the population and the environment associated with strengthening health services so that the goals proposed in the End TB program can be achieved, be they control and / or eradication. The following chapter evaluated the microbiological quality of the Coalho cheese marketed in the municipality of Caicó-RN, by investigating the presence of *Mycobacterium* spp. through bacterial culture and molecular diagnosis. Fifty samples of Coalho cheese randomly from local commerce were analyzed: 35 were made from raw milk (artisanal) and 15 with pasteurized (industrialized) milk, from which materials were extracted and submitted to processes: to obtain DNA; cultivation (Stonebrink); conventional PCR for *M. bovis*; and finally, nested-PCR for *Mycobacterium* spp. In the laboratory research, it was not possible to isolate tuberculous mycobacteria from cheeses studied. However, the growth of non-tuberculous mycobacteria (NTM) in culture medium was detected in two samples (4%), which showed *hsp65* identity of: *Mycobacterium lehmanii* (sequence ID: KY933786.1, value-e: 2e-133, identities: 312/363 [86%]); and *Mycobacterium rutilum* (sequence ID: LT629971.1, value-e: 3e-108, identities: 331/371 [89%]), considered as indicative of environmental contamination. Knowing more about the characteristics of the MNT and considering them as emerging microorganisms and ubiquitous, it is suggested that more attention be given to the cheese production chain, both in good agricultural practices (GAPs) and in good food manufacturing practices (GMPs).

Key words: *Mycobacterium* spp.; Tuberculosis; Coalho cheese; Rio Grande do Norte-Brazil; non-tuberculous mycobacteria (NTM).

LISTA DE TABELAS.

TÍTULO	Pág.
Quadro 1 – Dados primários referentes ao número de casos novos de Tuberculose humana notificados no Rio Grande do Norte, de acordo com a forma da doença, no período de 2008 a 2017.	19
Quadro 2 – Número de casos novos de Tuberculose humana, sua proporção e ocorrência em grupos de 100.000 habitantes, distribuídos por Região brasileira, no período de 2008 a 2017.	19
Quadro 3 – Total de casos novos de Tuberculose humana, sua proporção e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.	20
Quadro 4 – Total de casos novos de Tuberculose pulmonar, sua proporção e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.	20
Quadro 5 – Total de casos novos de Tuberculose nas formas: extrapulmonar e associada, sua proporção e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.	21

LISTA DE FIGURAS.

TÍTULO	Pág.
Figura 1 – Distribuição das Unidades Regionais de Saúde Pública (URSAPs) no Estado do Rio Grande do Norte.	18
Gráfico 2 – Comportamento anual da Tb no Rio Grande do Norte, de acordo com casos novos notificados, no período de 2008 a 2017.	22

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.

%	Porcentagem
μl	Microlitro (10 ⁻⁶ litros)
°C	Grau Celsius
10 ⁵ hab	100.000 hab
BLAST	Basic Local Alignment Search Tool
BPAAs (<i>GAPs</i>)	Boas Práticas Agropecuárias
BPFs (<i>GMPs</i>)	Boas Práticas de Fabricação
CMT	Complexo <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
CNGC	Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dNTPs	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
GYM	Glucose Yeast Maltose
hab	habitantes
<i>hsp</i>	heat-shock protein
HIV	Human Immunodeficiency Virus
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
MAP	<i>Mycobacterium avium</i> subspécie <i>paratuberculosis</i>
MDR	Multidroga resistente
min	Minutos (unidade de tempo)
ml	Mililitro (10 ⁻³ litros)
mM	Micromol (10 ⁻⁶ moles)
MNT	(NTM) Micobacérias Não Tuberculosas
MS	Mato Grosso do Sul
n=	Número igual a
NCBI	National Center for Biotechnology Information
Ng	Nanograma (10 ⁻⁹ gramas)
NOA/NOAS	Norma Operacional de Atenção à Saúde
OMS (<i>WHO</i>)	Organização Mundial de Saúde
PB	Paraíba
pb	Pares de base
PCR	Reação da Polimerase em Cadeia

pmol	Picomol (10^{-12} moles)
RGM	Rapid Growing Mycobacterium
RN	Rio Grande do Norte
seg	Segundo (unidade de tempo)
SESAP	Secretaria Estadual de Saúde Pública
SF	Solução Fisiológica
SIDA (AIDS)	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Sinan	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SUS	Sistema Único de Saúde
SUVIGE	Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica
Taq	<i>Thermus aquaticus</i>
Tb (TB)	Tuberculose
TBMDR	Tuberculose multidroga resistente
TSA	Trypticase Soy Agar
U	Unidades
UF	Unidade Federativa
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
URSAP	Unidade Regional de Saúde Pública

INTRODUÇÃO GERAL

Mundialmente, a tuberculose é uma das 10 principais causas de morte humana e é tida como sendo a principal causadora de óbitos por um único agente infeccioso, situando-se acima de HIV/AIDS e milhões de pessoas continuam a adoecer de tuberculose a cada ano. A Organização Mundial de Saúde (OMS) aponta que, globalmente, cerca de 10,0 milhões de pessoas (intervalo de 9,0 a 11,1 milhões) desenvolveram a doença tuberculose em 2017. Ainda de acordo com a publicação, em 2017 esta doença causou cerca de 1,3 milhões de mortes entre pessoas HIV-negativas; e em torno de 300.000 mortes adicionais em decorrência de co-infecção: tuberculose/HIV-positivas (WHO, 2018).

Em 2015 o Continente Americano representava 3% da prevalência mundial de tuberculose, com estimativa de 268 mil novos casos, dos quais Brasil (33%), Peru (14%), México (9%) e Haiti (8%) são os países que registram a maior carga da doença no continente. Nesse período, estimou-se a ocorrência de 18.500 óbitos na região; acrescida de 7.700 casos de tuberculose multidroga resistente (TBMDR); e mais 31.600 casos estimados de co-infecção Tb-HIV. Na América Latina, Brasil (casos de tuberculose de todas as formas e Tb-HIV) e Peru (TBMDR) são os dois países da região que integram a lista de alta prevalência da OMS (Brasil, 2017a).

O Brasil é um dos 22 países priorizados pela OMS, os quais representam 80% da ocorrência mundial de Tb, onde esta doença constitui a nona causa de hospitalização e a quarta causa de mortalidade por doenças infecciosas. O Brasil ocupa a 18ª posição em carga de tuberculose, representando 0,9% dos casos estimados no mundo. A tuberculose é um importante e prioritário problema de saúde pública no Brasil, afetando as populações mais pobres e nas idades mais produtivas da vida. Ainda em relação ao Brasil, em 2015, cerca de 69 mil pessoas foram acometidas pela Tb; registrando-se 4,5 mil óbitos, aproximadamente. Além disso, 6,8 mil pessoas se apresentavam co-infectadas com HIV e 1.077 desenvolveram TBMDR (Brasil, 2017a).

Em relação ao Nordeste do Brasil, no ano de 2016 a região apresentou coeficientes de incidência de 30,6 e de mortalidade 2,6 por 100.000 hab. Ainda neste Boletim Epidemiológico, o Estado do Rio Grande do Norte notificou índices abaixo daqueles observados na região: 27 e 1,9 para incidência e mortalidade por 100.000 hab, respectivamente (BRASIL, 2017b).

O Codex Alimentarius (2004) corrobora que todos os alimentos têm o potencial de causar doenças (DTAs), e o leite e os produtos lácteos não são exceção. Os produtos lácteos podem transportar microrganismos patogênicos, e a presença desses micróbios no leite podem aumentar o risco de causar DTAs. De acordo com CEZAR et al. (2016), o consumo de leite e seus derivados contaminados, tais como queijos e iogurtes, com *M. bovis* representam a principal via de infecção da tuberculose zoonótica para o homem.

A contaminação microbiana de queijos tem consequências muito importantes, tanto para a indústria de laticínios, dadas as possíveis perdas econômicas, como para a saúde pública, devido ao risco de surtos de DTAs (de Oliveira, Corassin, Lee, Gonçalves, & Barancelli, 2017).

O queijo de coalho artesanal é um produto lácteo popular, amplamente consumido na região Nordeste do Brasil, sendo produzido com leite cru ou pasteurizado, adicionando-se coalho, e submetido ao cozimento (Faria et al., 2014). O consumo de queijos de coalho artesanais provenientes de feiras livres representa um risco para a saúde humana, devido à possibilidade de transmissão de MNT e outras actinobactérias potencialmente patogênicas (Sarti et al., 2018).

O município de Caicó, código 2402006 (IBGE, 2017), está inserido no Território denominado Seridó Potiguar, que fica na Mesorregião Central do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. A pecuária e o setor de laticínios nesta região têm atualmente uma importância fundamental na organização socioespacial agrária e regional (ADESE, 2011). Ainda de acordo com a ADESE (2011), nesta região as queijeiras somam aproximadamente 314 unidades que absorvem 42,25% de toda produção de leite para a fabricação de diversos tipos de queijos como: manteiga, coalho e ricota. Sua produção anual é de 315 toneladas, e atende o mercado consumidor de parte do Rio Grande do Norte e de outros estados do país.

O presente trabalho objetivou conhecer o perfil epidemiológico da tuberculose no Rio Grande do Norte e detectar a presença de *Mycobacterium* spp. em queijos de coalho comercializados no município de Caicó-RN.

REFERÊNCIAS

ADESE. (2011). *Diagnóstico da Bacia Leiteira do Território Seridó*. Caicó-RN: Colegiado Territorial do Seridó.

Brasil. (2017a). *Brasil Livre da tuberculose (1ª)*. Brasília-DF: Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde Ministério da saúde . Retrieved from www.saude.gov.br/bvs

Cezar, R. D. S., Lucena-Silva, N., Borges, J. M., Santana, V. L. A., & Pinheiro Junior, J. W. (2016a). Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.04.007>

Codex Alimentarius. (2004). *Code of Hygienic Practice for Milk and Milk Products. CAC/RPC 57-2004*.

de Oliveira, C. A. F., Corassin, C. H., Lee, S. H. I., Gonçalves, B. L., & Barancelli, G. V. (2017). *Pathogenic Bacteria in Cheese, Their Implications for Human Health and Prevention Strategies. Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00005-X>

Faria, A. C. S., Schwarz, D. G. G., Carvalho, I. A., Rocha, B. B., De Carvalho Castro, K. N., Silva, M. R., & Moreira, M. A. S. (2014). Short communication: Viable *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4111–4114. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7835>

IBGE. Geociências: Caicó, RN, Brasil - v4.3.11.0 (2017). Retrieved December 8, 2018, from <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rn/caico/panorama>

Sarti, E., Rodrigues, R., Duarte, L., Bacanelli, G., Lilenbaum, W., & Araújo, F. (2018). Detection of Potentially Pathogenic Non-Tuberculous Mycobacteria in Artisanal Coalho Cheese from the State of Paraíba, Northeast Brazil. *Mycobacterial Diseases*, 8(3). <https://doi.org/10.4172/2161-1068.1000266>

WHO. (2018). *Global tuberculosis report - 2018*. World Health Organization. Geneva: WHO - World Health Organization. Retrieved from <http://apps.who.int/bookorders>.

CAPÍTULO I

Comportamento da tuberculose humana no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre 2008 e 2017.

(Artigo em submissão junto à Revista ACSA – Agropecuária Científica no Semiárido, sob o código #1121. Ver Anexos 01 e 02).

Comportamento da tuberculose humana no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre 2008 e 2017.

AUTORES: Giovanni Brito Medeiros; Pirajá Saraiva Bezerra Neto; Vitória Viviane Ferreira de Aquino; Severino Silvano dos Santos Higino; Rosália Severo de Medeiros; e Onaldo Guedes Rodrigues.

RESUMO

Objetivo: Sabe-se que a tuberculose (Tb) é mundialmente uma das 10 principais causas de morte humana e é tida como a principal causadora de óbitos por um único agente infeccioso. A região das Américas representa 3% da prevalência mundial da doença, dos quais 33% são atribuídos ao Brasil, sendo esse um dos 22 países priorizados pela OMS, e que juntos representam 80% da ocorrência mundial desta bacteriose. O presente estudo objetivou descrever sobre o comportamento da doença no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, no período de 2008 a 2017.

Metodologia: trata-se de estudo descritivo, retrospectivo, que avalia a incidência anual da tuberculose no estado do Rio Grande do Norte e ocorrência de suas formas clínicas. Os dados primários foram obtidos junto ao Programa de Tuberculose no Rio Grande do Norte, da Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica – SUVIGE/SESAP-RN, enquanto os dados secundários foram colhidos junto ao Sinan/Ministério da Saúde.

Resultados e Discussão: Observou-se haver divergência entre os coeficientes de incidência calculados com dados primários daqueles que estão publicados em Boletins Epidemiológicos: 37,1 a 27,0, por grupo de 100 mil hab; além disso, a doença apresentou tendência linear de crescimento no Rio Grande do Norte.

Considerações finais: Medidas amplas de proteção à população e ao meio ambiente, bem como o fortalecimento dos serviços de saúde são essenciais para que se consiga atingir as metas propostas no End TB, sejam de controle e/ou de erradicação.

PALAVRAS CHAVE: Comportamento da tuberculose humana; Rio Grande do Norte; *End TB*.

Behavior of human tuberculosis in the State of Rio Grande do Norte, Brazil, from 2008 to 2017.

ABSTRACT

Objective: It is known that tuberculosis (TB) is one of the 10 main causes of human death worldwide and is considered the main cause of death by a single infectious agent. The Region of the Americas accounts for 3% of the global prevalence of the disease, of which 33% is attributed to Brazil, which is one of the 22 countries prioritized by the WHO, which together represent 80% of the worldwide occurrence of this bacteriosis. The present study aimed to describe the behavior of the disease in the state of Rio Grande do Norte, Brazil, from 2008 to 2017.

Methodology: This is a descriptive and retrospective study that evaluates the annual incidence of tuberculosis in the state of Rio Grande do Norte and the occurrence of its clinical forms. The primary data were obtained from the Tuberculosis Program in Rio Grande do Norte, from the Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica - SUVIGE / SESAP-RN, while the secondary data were collected from Sinan / Ministério da Saúde.

Results and Discussion: There was a divergence between the incidence coefficients calculated with primary data from those published in Epidemiological Bulletins: 37.1 to 27.0, per group of 100 thousand inhabitants; in addition, the disease showed a linear growth trend in Rio Grande do Norte.

Final considerations: Comprehensive measures to protect the population and the environment, as well as the strengthening of health services, are important in order to achieve the goals proposed at the end of TB, whether for control and / or eradication.

KEY WORDS: Human TB, Rio Grande do Norte; *End TB*.

INTRODUÇÃO

Mundialmente, a tuberculose é uma das 10 principais causas de morte humana e é tida como sendo a principal causadora de óbitos por um único agente infeccioso, situando-se acima de HIV/SIDA e milhões de pessoas continuam a adoecer de tuberculose a cada ano. A Organização Mundial de Saúde (OMS) aponta que, globalmente, cerca de 10,0 milhões de pessoas (intervalo de 9,0 a 11,1 milhões) desenvolveram a doença tuberculose em 2017. Ainda de acordo com a publicação, em 2017 esta doença causou cerca de 1,3 milhões de mortes entre pessoas HIV-negativas; e em torno de 300.000 mortes adicionais em decorrência de co-infecção: tuberculose/HIV-positivas. O estudo também aponta que a ocorrência da doença varia amplamente entre os países. Em 2017, a maioria dos países com alta renda *per capita* registrou uma incidência abaixo de 10 novos casos por grupo de 100.000 hab; já nos países considerados de alta prevalência observaram-se índices de 150–400 casos; e em alguns países, acima de 500, incluídos nesta lista: Moçambique, Filipinas e África do Sul (WHO, 2018).

Em 2015 a região das Américas representava 3% da prevalência mundial de tuberculose, com estimativa de 268 mil novos casos, dos quais Brasil (33%), Peru (14%), México (9%) e Haiti (8%) são os países que registram a maior carga da doença no continente. Nesse período, estimou-se a ocorrência de 18.500 óbitos na região; acrescida de 7.700 casos de tuberculose multidrogarresistente (TBMDR); e mais 31.600 casos estimados de co-infecção Tb-HIV. Na América Latina, Brasil (casos de tuberculose de todas as formas e Tb-HIV) e Peru (TBMDR) são os dois países da região que integram a lista de alta prevalência da OMS (Brasil, 2017a).

O Brasil é um dos 22 países priorizados pela OMS, os quais representam 80% da ocorrência mundial de Tb, onde esta doença constitui a nona causa de hospitalização e a quarta causa de mortalidade por doenças infecciosas. O Brasil ocupa a 18ª posição em carga de tuberculose, representando 0,9% dos casos estimados no mundo. A tuberculose é um importante e prioritário problema de saúde pública no Brasil, afetando as populações mais pobres e nas idades mais produtivas da vida. Ainda em relação ao Brasil, em 2015, cerca de 69 mil pessoas foram acometidas pela Tb; registrando-se 4,5 mil óbitos, aproximadamente. Além disso, 6,8 mil pessoas se apresentavam co-infectadas com HIV e 1.077 desenvolveram TBMDR (Brasil, 2017a).

Em relação ao nordeste do Brasil, no ano de 2016 a região apresentou coeficientes de incidência de 30,6 e de mortalidade e 2,6 por 100.000 hab. Ainda neste Boletim Epidemiológico, o Estado do Rio Grande do Norte notificou índices abaixo daqueles observados na região: 27 e 1,9 para incidência e mortalidade por 100.000 habitantes, respectivamente (BRASIL, 2017b).

Em humanos, a tuberculose (Tb) é uma doença causada por espécies do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT), predominantemente *M. tuberculosis*; contudo, há uma proporção de casos de Tb zoonótica a qual é atribuída a *M. bovis* (Silva et al., 2018). A tuberculose zoonótica ainda é uma questão negligenciada em áreas em desenvolvimento no mundo, apesar de ser priorizada pela OMS desde os anos 50 (Mableson, Okello, Picozzi, & Welburn, 2014). O manejo sanitário deficiente dos rebanhos leiteiros, bem como os cuidados inadequados no processamento de queijos,

sugere um crescente risco de contaminação por muitos microrganismos, que depreciam o produto e colocam em risco a saúde humana (Faria et al., 2014). O consumo de leite e seus derivados (queijos e iogurtes) contaminados com *M. bovis* representam a principal via de infecção da tuberculose zoonótica para o homem (Cezar, Lucena-Silva, Borges, Santana, & Pinheiro Junior, 2016b)

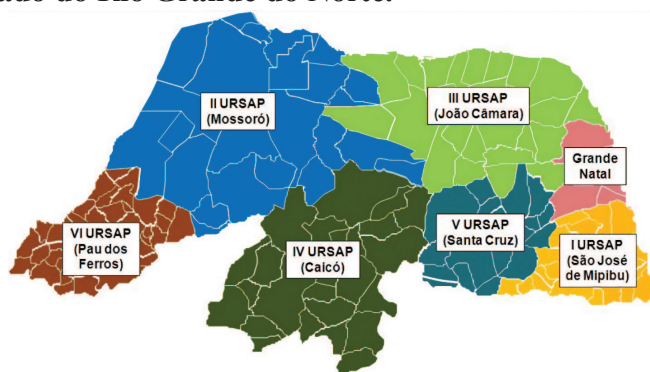
Thoen et al. (2010) destacaram o risco biológico associado ao *M. bovis* MDR (multidrogaressistente), especialmente em países onde coexistem animais infectados por *M. bovis* e humanos HIV-positivos, particularmente em regiões como a África Subsaariana, Ásia e América Latina. Além disso, essas são regiões onde a incidência real de *M. bovis* em humanos é subestimada ou mesmo ignorada.

O conceito de região de saúde adotado na NOAS-SUS 01/01 (Brasil, 2002) é bastante amplo, uma vez que esta definição deve ser feita no âmbito de cada Unidade Federativa (UF), de acordo com as características do estado (demográficas, epidemiológicas, entre outras), as prioridades de atenção identificadas e o modelo de regionalização adotado. Algumas UFs podem apresentar macro e microrregiões de saúde; outras apenas regiões de saúde, ou regiões e microrregiões.

No caso da saúde, a regionalização, um dos princípios organizadores do SUS, entra na agenda apenas no final dos anos 90 e início dos anos 2000, como uma preocupação central dos gestores. E, como proposto por NOAS 2001 e 2002, pressupõe a formação de regiões funcionais de saúde (DUARTE et al., 2015). O processo de regionalização deve incluir um planejamento lógico integrado, incluindo as noções de territorialidade, na identificação de prioridades de ação e conformação de sistemas de saúde funcionais, não necessariamente restritos a municípios, respeitando seus limites como unidade indivisível, para garantir o acesso público, bem como a implementação de ações e serviços necessários para resolver seus problemas de saúde, otimizando os recursos disponíveis. (Brasil, 2002).

O Rio Grande do Norte (RN) está subdividido em 7 Unidades de Saúde: sendo 6 Unidades Regionais de Saúde Pública (URSAP), mais a Unidade Central Metropolitana, na Grande Natal. As URSAPs estão estrategicamente distribuídas pelo território potiguar, sendo assim denominadas: I-URSAP São José do Mipibu-RN; II-URSAP Mossoró; III-URSAP João Câmara; IV-URSAP Caicó; V-URSAP Santa Cruz; e VI-URSAP Pau dos Ferros (Figura 02).

Figura 1 – **Distribuição das Unidades Regionais de Saúde Pública (URSAPs) no Estado do Rio Grande do Norte.**



Fonte: SESAP-RN

Objetivando compreender o comportamento das formas de ocorrência da tuberculose no RN: pulmonar; extrapulmonar; e associada (quando ocorrem as duas anteriores concomitantemente), este estudo analisará a distribuição da doença no território estudado, bem como fará análise dos registros da doença com outros estados do Nordeste, e regiões do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo descritivo, de caráter retrospectivo, que fez uso de dados epidemiológicos primários e secundários que avalia a incidência anual da tuberculose no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre os anos de 2008 a 2017.

Fonte dos dados

Os dados primários referentes à tuberculose no RN foram obtidos junto ao Programa de Tuberculose no Rio Grande do Norte, da Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica – SUVIGE/SESAP-RN, em julho de 2018, os quais foram disponibilizados em séries históricas referentes aos 10 últimos anos. A população do estudo foi constituída por pessoas portadoras de Tb, que apresentaram uma das três formas clínicas da doença: pulmonar, extrapulmonar e associada; residentes no Rio Grande do Norte.

Os secundários, que contextualizam a morbidade da Tb em níveis regionais e nacional, foram obtidos a partir da consolidação das bases de registros do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan).

Referente a populações, para o cálculo do coeficiente de incidência se utilizou as estimativas populacionais do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) para o ano de 2016, cujas projeções estão calculadas tendo por base os dados do Censo Demográfico de 2010.

Estudo descritivo

Trata-se de uma pesquisa descritiva com abordagem quantitativa, onde se fez enfrentamento dos dados primários em relação aos secundários, considerando-se o efetivo populacional do Estado do Rio Grande do Norte e das Unidades Regionais de Saúde Pública – URSAP.

Foram tabulados os dados de incidência de casos novos de tuberculose por 100.000 habitantes segundo as variáveis: ano de ocorrência e a forma de registro da doença (pulmonar, extrapulmonar e associada). As notificações são realizadas de duas maneiras: a) conforme a URSAP notificadora; e b) ou pelo endereço de residência do paciente. Este estudo optou por considerar os casos de acordo com o endereço de moradia, por considerar ser mais fidedigno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 1, as análises foram realizadas considerando dados primários acerca de casos novos da tuberculose notificados no período estudado, segundo a URSAP de residência do paciente.

Quadro 1 – Dados primários referentes ao número de casos novos de Tuberculose humana notificados no Rio Grande do Norte, de acordo com a forma da doença, no período de 2008 a 2017.

REGIONAL	FORMAS DE TB (2008 A 2017)			Nº CASOS	POPULAÇÃO
	PULMONAR	EXTRAPULMONAR	ASSOCIADA		
Metropolitana	6.453	976	248	7.677	1.333.153
I URSAP	1.000	136	35	1.171	383.052
II URSAP	1.758	161	23	1.942	640.438
III URSAP	660	71	21	752	351.041
IV URSAP	519	87	13	619	312.786
V URSAP	304	47	11	362	200.634
VI URSAP	324	39	12	375	253.894
TOTAL	11.018	1.517	363	12.898	3.474.998

FONTE: SUVIGE/SESAP-RN/Sinan

O Quadro 2 trata de dados secundários, de acordo com o número total de casos novos notificados nas Regiões do Brasil, sua proporção regional e ocorrência por grupos de 100.000 hab. Por fim, foi possível se traçar o somatório da doença no Brasil, no período de 2008 a 2017.

Quadro 2 – Número de casos novos de Tuberculose humana, sua proporção e ocorrência em grupos de 100.000 habitantes, distribuídos por Região brasileira, no período de 2008 a 2017.

REGIÃO	CASOS	%	/10 ⁵ hab.	POPULAÇÃO
Norte	75.100	10,50	42,4	17.707.783
Nordeste	193.903	27,00	34,1	56.915.936
Sudeste	326.260	45,50	37,8	86.356.952
Sul	87.417	12,30	29,7	29.439.773
Centro Oeste	33.597	4,70	21,5	15.660.988
BRASIL	717.531	100,00	34,8	206.081.432

FONTE: Sinan

No período observado, a SUVIGE-RN validou um total de 12.898 casos da doença, com média anual de 1.289,8 registros. Considerando-se a população potiguar estimada em 3.474.998 habitantes (IBGE, 2016), isso representa 37,1 casos de Tb para cada grupo de 100.000 habitantes. Analisando-se a distribuição das notificações por Unidade Regional, a Metropolitana foi a que mais registrou a doença, englobando 59,52% do total de citações ou 57,6 casos por grupo de 100.000 habitantes. As Regionais sediadas em São José de Mipibu e Mossoró registraram em média 30,6 e 30,3 casos por centena de milhar, respectivamente. Ainda de acordo com os seus efetivos

populacionais, as demais URSAPs anunciaram os seguintes números: III URSAP: 21,4; IV URSAP: 19,8; V URSAP: 18,0; e VI URSAP: 14,8 por grupos de cem mil (Quadro 03).

Quadro 3 – Total de casos novos de Tuberculose humana, sua proporção e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.

REGIONAL	TOTAL DE CASOS TB (2008 – 2017)			POPULAÇÃO
	N	%	/10 ⁵ hab.	
Metropolitana	7.677	59,52	57,6	1.333.153
I URSAP	1.171	9,08	30,6	383.052
II URSAP	1.942	15,06	30,3	640.438
III URSAP	752	5,83	21,4	351.041
IV URSAP	619	4,80	19,8	312.786
V URSAP	362	2,81	18,0	200.634
VI URSAP	375	2,91	14,8	253.894
T O T A L	12.898	100,00	37,1	3.474.998

FONTE: SUVIGE/SESAP-RN/Sinan

Dentre as formas de ocorrência registradas da doença, a pulmonar foi a que reuniu maior notificação. No período, anotaram-se 11.018 casos desse tipo de tuberculose, cuja média anual é de 1.101,8; equivalendo a 85,43% do total das notificações ou a 31,7 registros por 100.000 habitantes. Proporcionalmente a II URSAP foi a que mais inseriu casos novos por ano, com 90,53% desses. Por outro lado, a Unidade Metropolitana notificou a maior ocorrência de tuberculose pulmonar para cada 100.000 habitantes, 48,4 casos. Os números apontam que a Unidade Regional de Pau dos Ferros (VI URSAP) foi a que menos anotou casos: 324, representando uma ocorrência de 12,8 por 100.000 hab (Quadro 4).

Quadro 4 – Total de casos novos de Tuberculose pulmonar, sua proporção e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.

REGIONAL	PULMONAR			POPULAÇÃO
	N	%	/10 ⁵ hab.	
Metropolitana	6.453	84,06	48,4	1.333.153
I URSAP	1.000	85,40	26,1	383.052
II URSAP	1.758	90,53	27,4	640.438
III URSAP	660	87,77	18,8	351.041
IV URSAP	519	83,84	16,6	312.786
V URSAP	304	83,98	15,1	200.634
VI URSAP	324	86,40	12,8	253.894
T O T A L	11.018	85,43	31,7	3.474.998

FONTE: SUVIGE/SESAP-RN/Sinan

Para as demais formas registradas: extrapulmonar e associada, os casos contabilizados da doença foram menos expressivos, conforme mostra o quadro 5. Na primeira delas, a média anual de casos notificados foi de 151,7 e a última com 36,3 registros; equivalendo a uma porcentagem de 11,76% e 2,81% ou 4,4 e 1,0 novo caso de Tb ao ano para cada grupo de 100.000 habitantes, respectivamente. Observa-se que na IV URSAP, sediada em Caicó, os casos na forma extrapulmonar da doença registram a maior proporção regional no Estado – 14,1% (Quadro 5).

Quadro 5 – Total de casos novos de Tuberculose nas formas extrapulmonar e associada, sua proporção, e ocorrência em grupos populacionais de 100.000 habitantes, segundo a Unidade Regional de Saúde no Rio Grande do Norte, no período de 2008 a 2017.

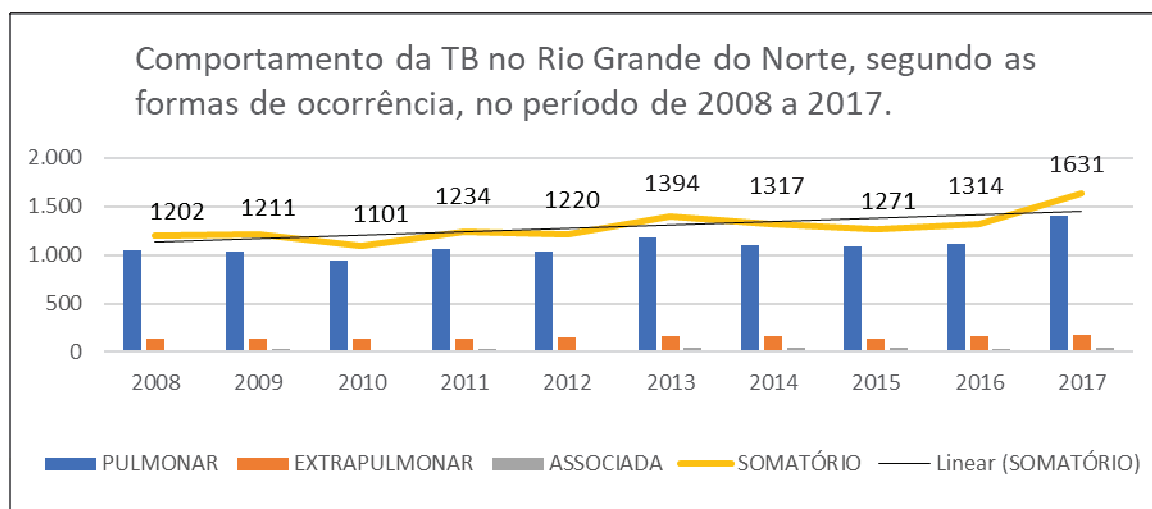
REGIONAL	FORMAS DE TUBERCULOSE						POPULAÇÃO
	EXTRAPULMONAR			ASSOCIADA			
	N	%	/10 ⁵ hab.	N	%	/10 ⁵ hab.	
METROPOLITANA	976	12,7	7,3	248	3,23	1,9	1.333.153
I URSAP	136	11,6	3,6	35	2,99	0,9	383.052
II URSAP	161	8,3	2,5	23	1,18	0,4	640.438
III URSAP	71	9,4	2,0	21	2,79	0,6	351.041
IV URSAP	87	14,1	2,8	13	2,10	0,4	312.786
V URSAP	47	13,0	2,3	11	3,04	0,5	200.634
VI URSAP	39	10,4	1,5	12	3,20	0,5	253.894
T O T A L	1.517	11,76	4,4	363	2,81	1,0	3.474.998

FONTE: SUVIGE/SESAP-RN/Sinan

Das formas clínicas da doença, predominantemente a mais observada no território potiguar é a pulmonar, cuja média anual de incidência foi de 85,43% ou 37,1 casos por grupo de 100 mil (Quadro 4), seguida pelas extrapulmonar e associada: 11,76 e 2,81, respectivamente (Quadro 5). Estes registros estão em consonância com os estudos de Hino et al. (2013) e Araujo et al., (2013), cujos artigos descreveram sobre a Tb em São Paulo e Paraíba, respectivamente. O Rio Grande do Norte é um estado nordestino e de acordo com Pereira et al. (2018), algumas situações, como pobreza, desnutrição, más condições sanitárias, alta densidade populacional, advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e envelhecimento da população, são fatores implicados na disseminação e gravidade da doença. Além disso, a associação entre a incidência de tuberculose e as variáveis socioeconômicas é descrita em diversos estudos e corrobora a observação da alta carga da doença nos países ditos em desenvolvimento, como o Brasil.

Constatou-se que há divergências entre as informações publicadas nos Boletins Epidemiológicos do Ministério da Saúde (BRASIL, 2017a) com os dados primários utilizados neste estudo. Enquanto aquele reporta uma incidência de 27,0; este ratifica para cima a incidência, denotando um coeficiente maior: 37,1 casos por grupo de 100 mil (Quadro 3). Além disso, a doença apresentou comportamento com tendência de crescimento nos anos observados (Gráfico 1), contrariando o que está proposto pelo Ministério da Saúde para tornar o Brasil livre da tuberculose (Brasil, 2017a);

Gráfico 1 – Comportamento anual da Tb no Rio Grande do Norte, de acordo com casos novos notificados, no período de 2008 a 2017.



FONTE: SUVIGE/SESAP-RN/Sinan

De acordo com o Boletim Epidemiológico (Brasil, 2017a) acerca da estratégia *End TB* da OMS, considerou três pilares fundamentais para o fim da Tb no Brasil: *a)* atenção e prevenção integradas, centradas no paciente; *b)* políticas arrojadas e sistemas de apoio; e, *c)* intensificação da pesquisa e inovação. Ao cumprimento na execução das ações integradas ao Plano, as quais contemplam medidas voltadas à atenção e prevenção centradas no paciente, como a realização de testes HIV para casos novos da doença e o cultivo bacteriológico de escarro. Em 2016, a SESAP-RN testou 64,2% dos novos casos para HIV, apresentando números superiores aos registros referentes à Região Nordeste: de 62,1%; contudo, bem inferiores àqueles que se referem ao Brasil: 73,2% (Brasil, 2017b). Já em relação ao uso de cultivo bacteriológico de escarro para identificar o agente etiológico é preocupante a situação encontrada: apenas 12,6% dos casos diagnosticados foram submetidos a cultivo; aquém dos números reportados ao Nordeste e Brasil, cujos registros apontam: 19,2% e 33,6%, respectivamente. Se o RN adotasse realizar mais diagnósticos por meio de cultivo bacteriano, a ocorrência da Tb extrapulmonar poderia ser mais bem compreendida, como é observado na IV URSAP – Caicó, região que expressou a maior proporção desta forma desta bacteriose no estado. Essa prática, certamente contribuiria para elucidar sobre a ocorrência da Tb zoonótica no estado, haja vista ser nesta região que está inserida a maior bacia leiteira potiguar e sua população rural ter por hábito o consumo de leite e queijos artesanais, produzidos em sua maioria com leite sem o devido tratamento térmico – *in natura* (ADESE, 2011).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Medidas amplas de proteção à população e ao meio ambiente, bem como o fortalecimento dos serviços de saúde são essenciais para que se consiga atingir as metas propostas no *End TB*, sejam de controle e/ou de erradicação.

É evidente que há necessidade de compromisso político, de cuidados verdadeiramente centrados no paciente e de atenção às comorbidades, bem como de controle de fatores de risco, como diabetes, infecção pelo HIV, uso de drogas ilícitas, tabagismo e transtornos mentais. Também se deve dar atenção especial a grupos vulneráveis, populações de baixa renda e grupos desassistidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESE. (2011). *Diagnóstico da Bacia Leiteira do Território Seridó*. Caicó-RN: Colegiado Territorial do Seridó.
- Araujo, K. M. da F. A., Figueiredo, T. M. R. M. de, Gomes, L. C. F., Pinto, M. L., Silva, T. C. da, & Bertolozzi, M. R. (2013). Evolução da distribuição espacial dos casos novos de tuberculose no município de Patos (PB), 2001-2010. *Cadernos Saúde Coletiva*, 21(3), 296–302. <https://doi.org/10.1590/S1414-462X2013000300010>
- BRASIL. (2002). *REGIONALIZAÇÃO DA ASSISTÊNCIA À SAÚDE: APROFUNDANDO A DESCENTRALIZAÇÃO COM EQUIDADE NO ACESSO*. Brasília-DF. Retrieved from http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/regionalizacao_assist_saude.pdf
- Brasil. (2017a). *Brasil Livre da tuberculose (1ª)*. Brasília-DF: Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde Ministério da saúde . Retrieved from www.saude.gov.br/bvs
- Brasil, M. da saúde. S. de V. em S. (2017b). Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil. *Boletim Epidemiológico*, 48(8), 11.
- Cezar, R. D. S., Lucena-Silva, N., Borges, J. M., Santana, V. L. A., & Pinheiro Junior, J. W. (2016a). Detection of Mycobacterium bovis in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.04.007>
- Cezar, R. D. S., Lucena-Silva, N., Borges, J. M., Santana, V. L. A., & Pinheiro Junior, J. W. (2016b). Detection of Mycobacterium bovis in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. *International Journal of Mycobacteriology*, 5(3), 269–272. <https://doi.org/10.1016/j.ijmyco.2016.04.007>
- Codex Alimentarius. (2004). *Code of Hygienic Practice for Milk and Milk Products*. CAC/RPC 57-2004.
- de Oliveira, C. A. F., Corassin, C. H., Lee, S. H. I., Gonçalves, B. L., & Barancelli, G. V. (2017). *Pathogenic Bacteria in Cheese, Their Implications for Human Health and Prevention Strategies. Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809762-5.00005-X>
- Faria, A. C. S., Schwarz, D. G. G., Carvalho, I. A., Rocha, B. B., De Carvalho Castro, K. N., Silva, M. R., & Moreira, M. A. S. (2014). Short communication: Viable Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4111–4114. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7835>
- Hino, B., Takahashi, F., Rita, M., & Egry, Y. (2013). A OCORRÊNCIA DA TUBERCULOSE EM UM DISTRITO ADMINISTRATIVO DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO. *Escola Anna Nery Revista de Enfermagem Universidade Federal Do Rio de Janeiro*, 17(1), 153–159. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=127728366021>
- IBGE. (2017). Geociências: Caicó, RN, Brasil - v4.3.11.0. Retrieved December 8, 2018, from <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rn/caico/panorama>
- Mablesen, H. E., Okello, A., Picozzi, K., & Welburn, S. C. (2014). Neglected Zoonotic Diseases—The Long and Winding Road to Advocacy. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(6), e2800. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002800>

- Sarti, E., Rodrigues, R., Duarte, L., Bacanelli, G., Lilenbaum, W., & Araújo, F. (2018). Detection of Potentially Pathogenic Non-Tuberculous Mycobacteria in Artisanal Coalho Cheese from the State of Paraíba, Northeast Brazil. *Mycobacterial Diseases*, 8(3). <https://doi.org/10.4172/2161-1068.1000266>
- Silva, M. R., Rocha, A. da S., Araújo, F. R., Fonseca-Júnior, A. A., de Alencar, A. P., Suffys, P. N., ... Guimarães, M. D. C. (2018). Risk factors for human mycobacterium bovis infections in an urban area of Brazil. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 113(8), 1–6. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170445>
- Toen, C. O., Lobue, P. a, Enarson, D. a, Kaneene, J. B., & de Kantor, I. N. (2010). Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans. *International Journal on Tuberculosis and Lung Disease*, 14(9), 1075–1078. <https://doi.org/10.1002/9781118474310.ch1>
- WHO. (2018). *Global tuberculosis report - 2018*. World Health Organization. Geneva: WHO - World Health Organization. Retrieved from <http://apps.who.int/bookorders>.

CAPÍTULO II

Pesquisa de *Mycobacterium* spp. em queijos de coalho comercializados no município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil.

(Artigo em submissão junto à Revista Ciência Rural – sob o código CR-2019-0039. Ver Anexo 03 e 04).

1
2
3 1 **Pesquisa de *Mycobacterium* spp. em queijos de coalho comercializados no município de**
4
5 2 **Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil.**

6
7 3 **Detection of *Mycobacterium* spp. in Coalho cheese commercialized in the city of Caicó,**
8
9 4 **Rio Grande do Norte, Brazil.**

10
11
12 5 **(Artigo científico)**

13
14 6 **RESUMO**

15
16
17 7 **Objetivos:** O presente estudo teve como finalidade diagnosticar *Mycobacterium* spp. em
18
19 8 queijos de coalho comercializados no município de Caicó-RN, utilizando-se cultivo bacteriano
20
21 9 e diagnóstico molecular. **Metodologia:** Analisou-se 50 amostras de queijo de coalho obtidas
22
23 10 aleatoriamente no comércio local, sendo 35 elaboradas a partir de leite cru (artesanal) e 15
24
25 11 com leite pasteurizado (industrializado). Extraiu-se material dessas amostras, as quais foram
26
27 12 submetidas a processos: para obtenção de DNA; cultivo (Stonebrink); de PCR convencional
28
29 13 para pesquisa de *M. bovis*; e, finalmente, nested-PCR para *Mycobacterium* spp.
30
31 14 **Resultados:** Duas amostras (4%) apresentaram crescimento microbiano em meio de cultura,
32
33 15 as quais apresentaram identidade com *hsp65* de: *Mycobacterium lehmanii* (ID da sequência:
34
35 16 KY933786.1, valor e: 2e-133, identidades: 312/363 [86%]); e *Mycobacterium rutilum* (ID da
36
37 17 sequência: LT629971.1, valor e: 3e-108, identidades: 331/371 [89%]), apontando-se como
38
39 18 indicativos de contaminação ambiental. Há na literatura resultados publicados sobre
40
41 19 micobacterioses em humanos causadas por agentes com alta similaridade genética aos
42
43 20 encontrados neste estudo. **Conclusões:** As MNT são microrganismos emergentes e de
44
45 21 natureza ubíqua. Devido a essas características merecem maior atenção na cadeia produtiva de
46
47 22 queijos, tanto nas boas práticas agropecuárias (BPAs) quanto nas boas práticas de fabricação
48
49 23 de alimentos (BPFs).
50
51 24 **Palavras-chave:** *Mycobacterium* spp.; *Mycobacterium lehmanii*; *Mycobacterium*
52
53 25 *rutilum*; queijo de coalho; cultivo bacteriano e diagnóstico molecular.
54
55
56
57
58
59
60

26

27 ABSTRACT

28 Objectives: The present study aimed to diagnose *Mycobacterium* spp. in Coalho cheese
29 commercialized in the city of Caicó-RN Brazil, using bacterial culture and molecular
30 diagnosis. Materials and Methods: 50 samples of Coalho cheese obtained from local street
31 market were analyzed, 35 of which were made from raw milk (artesanal cheese) and 15 with
32 pasteurized milk (industrialized cheese). Material was extracted from these samples, which
33 were submitted to processes: to obtain DNA; cultivation (Stonebrink); conventional PCR for
34 *M. bovis*; and finally, nested-PCR for *Mycobacterium* spp. Results: Two samples (4%)
35 presented microbial growth in culture medium, which had *hsp65* identity of: *Mycobacterium*
36 *lehmanii* (sequence ID: KY933786.1, e value: 2e-133, identities: 312/363 [86%]); and
37 *Mycobacterium rutilum* (sequence ID: LT629971.1, value e: 3e-108, identities: 331/371
38 [89%]), being indicated as indicative of environmental contamination. There are published
39 results on mycobacterioses in humans and animals caused by agents with high genetic
40 similarity to those found in this study. Conclusions: NTMs are emerging microorganisms of a
41 ubiquitous nature. Due to these characteristics, they deserve greater attention in the cheese
42 production chain, both in good agricultural practices (GAPs) and in good food manufacturing
43 practices (GMPs).

44 **Key words:** *Mycobacterium* spp.; *Mycobacterium lehmanii*; *Mycobacterium rutilum*; Coalho
45 cheese; bacterial culture and molecular diagnosis.

46

47 INTRODUÇÃO

48 O gênero *Mycobacterium* compreende 188 espécies, incluindo vários patógenos
49 humanos importantes, bem como numerosas outras espécies ambientais (GUPTA; LO; SON,
50 2018). Esse gênero engloba organismos heterogêneos em termos de metabolismo,

1
2
3 51 crescimento,nicho, epidemiologia, patogenicidade e distribuição geográfica. Existem
4
5 52 patógenos notáveis, como *M. tuberculosis*,*M. bovis* e *M. leprae*; no entanto, a maioria
6
7 53 são organismos ambientais atuando tipicamente como agentes
8
9
10 54 infecciosos oportunistas (CHIMARA et al., 2008). Das doenças provocadas por essas bactérias,
11
12 55 a tuberculose ainda é, mundialmente, o principal problema de saúde pública e ocupa lugar de
13
14 56 liderança na causa *mortis* por doenças infecciosas, especialmente nos países em
15
16 57 desenvolvimento (ROCCHETTI et al., 2016).

18
19 58 De acordo com Cezar et al. (2016), o consumo de leite e seus derivados contaminados,
20
21 59 tais como queijos e iogurtes, com *M. bovis* representam a principal via de infecção da
22
23 60 tuberculose zoonótica para o homem. Contudo, Falkinham (1996) enfatizou o impacto de
24
25 61 micobactérias não tuberculosas na morbidade e mortalidade de pacientes com AIDS (e
26
27 62 imunossuprimidos), estimulou o início de estudos sobre epidemiologia, ecologia, genética,
28
29 63 biologia molecular e fisiologia de micobacterioses não tuberculosas. Em estudo posterior, esse
30
31 64 autor atribui que em parte, este aumento surpreendente no número de espécies deve-se a
32
33 65 seu aparecimento em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e o
34
35 66 advento de métodos para sequenciamento de DNA (FALKINHAM, 2013). Dessa forma, as
36
37 67 MNT ganharam proeminência nos últimos anos, e agora representam entre 30% e 50% do
38
39 68 número total de micobactérias isoladas em laboratórios de microbiologia (MARTÍNEZ
40
41 69 GONZÁLEZ et al., 2017).

42
43 70 O Codex Alimentarius (2004) corrobora que todos os alimentos têm o potencial de
44
45 71 causar doenças (DTAs), e o leite e os produtos lácteos não são exceção. Os produtos lácteos
46
47 72 podem transportar microrganismos patogênicos, e a presença desses micróbios no leite podem
48
49 73 aumentar o risco de causar DTAs. Ao contrário dos membros do complexo *Mycobacterium*
50
51 74 *tuberculosis*, os MNT não são parasitas obrigatórios. Micobactérias não tuberculosas são
52
53 75 habitantes normais, não contaminantes, de solos e água (FALKINHAM, 2013).

1
2
3 76 A contaminação microbiana de queijos tem consequências muito importantes, tanto
4
5 77 para a indústria de laticínios, dadas as possíveis perdas econômicas, como para a saúde
6
7 78 pública, devido ao risco de surtos de DTAs(DE OLIVEIRA et al., 2017).
8
9

10 79 Queijos artesanais são produzidos com leite sem o devido tratamento térmico
11
12 80 adequado em pequenas fazendas ao redor do mundo e muitas vezes a produção artesanal
13
14 81 desses produtos não atende aos requisitos higiênico-sanitários exigidos pelos órgãos oficiais,
15
16 82 principalmente quanto à possibilidade de contaminação com patógenos devido ao uso de leite
17
18 83 cru obtido de vacas leiteiras insalubres,manejadas com baixo rigor higiênico (CEZAR et al.,
19
20 84 2016), sendo, portanto, fontes potenciais de infecção. O queijo de coalho artesanal é um
21
22 85 produto lácteo popular, amplamente consumido na região Nordeste do Brasil, sendo
23
24 86 produzido com leite cru ou pasteurizado, adicionando-se coalho, e submetido ao
25
26 87 cozimento(FARIA et al., 2014). O consumo de queijosde coalho artesanais provenientes de
27
28 88 feiras livres representa um risco para a saúde humana, devido à possibilidade de transmissão
29
30 89 de MNT e outras actinobactérias potencialmente patogênicas(SARTI et al., 2018).Embora os
31
32 90 consumidores tenham acesso a queijos elaborados com leite pasteurizado é geralmente aceito
33
34 91 que o queijo feito com leite cru produz um sabor mais intenso do que aquele feito com leite
35
36 92 pasteurizado(BEUVIER; BUCHIN, 2005).
37
38
39
40
41

42 93 O município de Caicó, código 2402006 (IBGE, 2017), está inserido no Território
43
44 94 denominado Seridó Potiguar, que fica na Mesorregião Central do Estado do Rio Grande do
45
46 95 Norte, Brasil. A pecuária e o setor de laticínios nesta região têm atualmente uma importância
47
48 96 fundamental na organização socioespacial agrária e regional(ADESE, 2011). Ainda de acordo
49
50 97 com a ADESE (2011), nesta região as queijeiras somam aproximadamente 314 unidades que
51
52 98 absorvem 42,25% de toda produção de leite para a fabricação de diversos tipos de queijos
53
54 99 como: manteiga, coalho e ricota. Sua produção anual é de 315 toneladas, e atende o mercado
55
56 100 consumidor de parte do Rio Grande do Norte e de outros estados do país.
57
58
59
60

1
2
3 101 Considerando a importância do consumo de queijo de coalho no Nordeste brasileiro e
4
5 102 sua possível participação na cadeia epidemiológica de DTAs para humanos, o objetivo do
6
7 103 presente estudo foi detectar *Mycobacterium* spp. nesse tipo de queijo (artesanal e
8
9 104 industrializados), comercializados no sertão do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil, por
10
11 105 meio da associação de técnicas de cultivo bacteriológico e diagnóstico molecular.
12
13
14
15 106

17 107 MATERIAL E MÉTODOS

19 108 Amostragem

21 109 Foram colhidas 50 amostras de queijo de coalho no comércio varejista de Caicó,
22
23 110 Estado Rio Grande do Norte; contudo, parte delas (n=03) foi produzida no Estado da
24
25 111 Paraíba. Desse total, 35 foram produzidas pelo processo artesanal, com leite cru; e as outras
26
27 112 15, provenientes de estabelecimentos industrializados de pequeno e médio porte, cujo
28
29 113 processo de produção já se realiza a pasteurização do leite. O material colhido foi
30
31 114 acondicionado em sacos plásticos, e em seguida submetido ao congelamento em freezer em
32
33 115 temperatura de -20°C. Nessa condição foi transportado em caixas isotérmicas até o
34
35 116 Laboratório de Imunologia da Sanidade Animal da Embrapa Gado de Corte Campo Grande,
36
37 117 MS, Brasil.
38
39
40
41

42 118 Extração de DNA de queijo de coalho para PCR convencional

44 119 Aliquotas de 2g de queijo de coalho foram maceradas com pistilo até a obter-se
45
46 120 mistura homogênea e colocada em tubo Falcon 50ml; adicionou-se 10 ml de tampão de lise
47
48 121 alimentar (*Food Lysis Buffer/DNeasy mericon Food Kit*) e 25 µl de solução Proteinase K
49
50 122 (*Proteinase K Solution*) e agitada em vórtex. Incubou-se a 60°C por 30 minutos, submetendo-
51
52 123 as a agitação intermitente (a cada 10 min.). Após a incubação, foram resfriadas à temperatura
53
54 124 ambiente (15°C a 25°C) e centrifugadas por 5 minutos a 2.500 X g, evitando-se a transferência
55
56 125 de sedimentos para as etapas subsequentes do Protocolo. Transferiu-se cuidadosamente 7,0 ml
57
58
59
60

1
2
3 126 do sobrenadante límpido para um tubo Falcon 15 ml, contendo 5 ml de fenol/clorofórmio
4
5 127 gelado. Logo após, incubados em gelo, sob agitação intermitente (3 vezes) a cada 10 minutos e
6
7 128 centrifugados na velocidade máxima (4.450 rpm) em micro centrífuga refrigerada a 4°C.

9
10 129 O sobrenadante (fase superior aquosa) foi cuidadosamente removido para
11
12 130 um “novo” tubo Falcon de 15ml, evitando-se assim a transferência de proteínas precipitadas e
13
14 131 se repetiu os passos anteriores, substituindo-se o fenol/clorofórmio por clorofórmio.
15
16 132 Adicionou-se 2,5 ml de acetato de amônia 7M, homogeneizando-se a solução. Pôs-se 1 ml em
17
18 133 microtubos (*Eppendorf*) de 2ml, adicionando-se 1 ml de Etanol absoluto em cada
19
20 134 microtubo; seguida por homogeneização. Deixou-se no freezer a -20°C, por pelo menos 2
21
22 135 horas; seguiu-se com uma centrifugação por 15 minutos em microcentrífuga não refrigerada a
23
24 136 14.000 rpm, descartando-se o sobrenadante. *Ospellets* foram lavados com etanol 70% gelado e
25
26 137 deixados para secar completamente em temperatura ambiente.

27
28 138 Após secagem, adicionou-se 300µl de água mili”Q” autoclavada para dissolver bem o
29
30 139 sedimento, a concentração do DNA foi verificada em aparelho Qubit (Invitrogen) e sua
31
32 140 integridade por meio de Gel de Agarose a 1%.

33
34 141
35
36 142 **Nested-PCR para detecção direta do complexo *Mycobacterium tuberculosis* (CMT)**
37
38 143 **em queijos de coalho**

39
40 144 A nested-PCR para o gene *rv2807* do CMT foi realizada em duas etapas
41
42 145 de amplificação, segundo ARAÚJO et al. (2014). Inicialmente, para PCR convencional, foram
43
44 146 utilizados os iniciadores *rv2807* externoF: GGCGGTGGCGGAGTTGAAGGCGATGe
45
46 147 *rv2807* externoR: GCCGCGAGCGAGTCTGGGCGATGTC. Para a segunda amplificação, por
47
48 148 PCR em tempo real, foram utilizados os iniciadores *rv2807* internoF:
49
50 149 CATTGCTGCGTAATTCGATCA e *rv2807* internoR: GACCTTGGGGCGCTCAT; e
51
52 150 sonda 6FAMCAT-CCA-CAC-CTG-TTC-GMGBNFQ.

1
2
3 151 Durante a primeira etapa, a PCR convencional foi realizada utilizando 10 pmol de
4
5 152 cada iniciador, 10 mM de dNTPs (Invitrogen, EUA), 2,5 µl de tampão 10 × (Sigma, EUA),
6
7 153 1,25U de Taq DNA polimerase (Sigma, EUA), 100 ng de DNAe, em um volume final
8
9 154 de reação de 25 µl. As condições de amplificação por PCR foram 95°C por 4 min, e 35 ciclos
10
11 155 de 95°C por 90 seg, 65°C por 30 seg, 72°C por 45 seg, com extensão final a 72°C por 3 min.
12
13 156 As amplificações por PCR em tempo real foram realizadas na segunda etapa, utilizando 5
14
15 157 pmol de cada iniciador (Applied Biosystems, EUA), 5 pmol de sonda TaqMan
16
17 158 (Applied Biosystems, EUA), 6,25 µl de Master Mix PCR TaqMan (Applied Biosystems,
18
19 159 EUA), 3 µl da reação de PCR convencional, realizada durante o primeiro estágio, em um
20
21 160 volume final de reação de 12,5 µl. As condições de amplificação da PCR em tempo real
22
23 161 foram: 95°C por 10 min para desnaturação inicial, 35 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 seg
24
25 162 e anelamento/extensão a 62°C por 30 seg (Araújo et al., 2014). Todas as reações foram
26
27 163 realizadas em um termociclador StepOne Plus (Applied Biosystems, EUA), em duplicata,
28
29 164 utilizando DNA molde de *M. bovis* AN5 como controles de reação positiva.
30
31
32
33
34
35
36
37

38 166 **Cultivo bacteriano (Stonebrink)**

39
40 167 Macerou-se 5g de cada amostra de queijo de coalho em cadinho com 5 ml de solução
41
42 168 fisiológica de NaCl(SF) 0,9%, estéril; ao macerado, acrescentou-se 40 ml de SF 0,9% estéril
43
44 169 seguido de homogeneização. Dessa mistura, foram separados 5 ml, os quais foram
45
46 170 centrifugados por 15 minutos a 1.000 x g. Descartou-se a fase intermediária e ao sedimento
47
48 171 foram adicionados 5ml de água tipo I estéril com posterior agitação em vórtex. Em seguida,
49
50 172 foram transferidos 5 ml da suspensão para um tubo limpo e adicionados 3ml de Lauril Sulfato
51
52 173 de Sódio, seguido por agitação; incubou-se a 37°C o tubo contendo o material durante 20
53
54 174 minutos, submetendo-o a agitação a cada 5 minutos.
55
56
57
58
59
60

176 **Extração de DNA do cultivo Stonebrink**

177 O protocolo de extração de DNA foi baseado no método de termólise, de acordo com
178 De Medici, D. et al (2003).

179 A técnica se iniciou por transferir 1 ml da amostra obtida na fase de cultivo para um
180 microtubo de 1,5 ml, e centrifugá-la durante 10 minutos a 14.000 x g. Descartou-se o
181 sobrenadante cuidadosamente, e o sedimento foi ressuspensão em 300 µl de água ultrapura com
182 auxílio do vórtex. A próxima etapa foi centrifugar a 14.000 × g durante 5 minutos, e
183 novamente o sobrenadante foi cuidadosamente descartado. Ressuspendeu-se o sedimento em
184 200 µl de água ultrapura, que foi agitado com o vórtex. O tubo em seguida foi incubado a
185 100°C por 15 minutos, e seguidamente resfriado em gelo. Centrifugou-se o tubo durante 5
186 minutos a 14.000 x g a 40°C e o sobrenadante transferido cuidadosamente para um novo
187 microtubo. Incubou-se esse novamente por 10 minutos a 100°C e esfriado imediatamente em
188 gelo. Separou-se uma alíquota de 5 µl do sobrenadante para analisar DNA.

189 A concentração do DNA foi verificada em aparelho Qubit (Invitrogen) e sua
190 integridade por meio de gel de agarose corado.

192 **PCR para identificação de isolados bacterianos, obtidos em meio Stonebrink**

193 Realizou-se PCR com iniciadores que flanqueiam a região de diferenciação 4 (RD4),
194 específica de *M. bovis*, mb400F: AACGCGACGACCTCATATTC e mb400R:
195 AAGGCGAACAGATTCAGCAT, que amplificam fragmento de 400 pb, segundo Sales et al.
196 (2014) com modificações. A PCR foi realizada utilizando 10 pmol de cada iniciador, 10 mM
197 de dNTPs (Invitrogen, EUA), 2,5 µl de tampão 10 × (Sigma, EUA), 1,25 U de *Taq* DNA
198 polimerase (Sigma, EUA), 100 ng de DNA, em um volume final de reação de 25 µl. As
199 condições de amplificação por PCR foram 94°C por 5 min, e 35 ciclos a 94°C por 30 seg,
200 56°C por 30 seg, 72°C por 35 seg, com extensão final a 72°C por 3 min.

1
2
3 201 Os isolados negativos na PCR para RD4, foram submetidos à PCR para *hsp65* de
4
5 202 *Mycobacterium* spp., para posterior sequenciamento de DNA. Para tanto, foram utilizados os
6
7 203 iniciadores Tb11: ACCAACGATGGTGTGTCCAT e Tb12:
8
9 204 CTTGTCTGAACCGCATACCCT para *Mycobacterium* spp., segundo TALENTI et al. (1993).
10
11 205 A PCR foi realizada utilizando 10 pmol de cada iniciador, 10 mM de dNTPs (Invitrogen,
12
13 206 EUA), 2,5 µl de tampão 10 × (Sigma, EUA), 1,25 U de *Taq* DNA polimerase (Sigma, EUA),
14
15 207 100 ng de DNA, em um volume de reação de 25 µl. As condições de amplificação por PCR
16
17 208 foram: 45 ciclos de desnaturação por 60 seg a 94°C, anelamento por 60 seg a 60°C, e
18
19 209 extensão a 72°C, seguido por 10 min de extensão a 72°C.

20 210 Posteriormente, os produtos da PCR foram purificados usando o ExoSAP e
21
22 211 sequenciados em duplicata, usando o Big Dye Terminator Kit Cycle Sequencing (versão 3.1,
23
24 212 Applied Biosystems, Foster City, EUA). As sequências de DNA de consenso resultantes foram
25
26 213 submetidas à busca de identidade usando do Blastn (NCBI).
27
28
29
30
31
32

33 214

34 215 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

35
36 216 As amostras de queijo de coalho produziram resultado negativo na nested-PCR para
37
38 217 CMT (gene *rv2807*).

39
40 218 No cultivo das amostras em meio Stonebrink, duas apresentaram crescimento
41
42 219 bacteriano (4%). Verificou-se que os isolados apresentaram identidade com *hsp65* de
43
44 220 *Mycobacterium lehmanni* (ID da sequência: LT629971.1, valor e: 3e-108, identidades:
45
46 221 331/371 [89%]); e *Mycobacterium rutilum* (ID da sequência: KY933786.1, valor e: 2e-133,
47
48 222 identidades: 312/363 [86%]).
49
50
51
52

53
54 223 Não há dados epidemiológicos oficiais atualizados sobre a prevalência da tuberculose
55
56 224 animal nos Estados do Rio Grande do Norte e Paraíba. Entretanto, os dados oficiais
57
58 225 disponíveis sobre a ocorrência da doença por *M. bovis*, no rebanho bovino, referem-se a
59
60

1
2
3 226 índice nacional de 1,3% (BRASIL, 2006). Esses dados estão em concordância com estudo
4
5 227 publicado por Ferreira Neto et al.(2016), que utilizando testes de tuberculização no rebanho
6
7 228 bovino de 13 estados brasileiros produtores de leite observou o predomínio de prevalência
8
9 229 situada até 1,5%; exceto regiões do Espírito Santo, norte de São Paulo, sul de Minas Gerais
10
11 230 cujos índices observados variaram entre 1,5% e 2,5%.

12
13
14 231 O não isolamento de *M. bovis* neste trabalho não surpreende e está em consonância
15
16 232 com as observações de Moriconi(2013),que pesquisou a ocorrência de*M. bovis* em queijos
17
18 233 minas meia cura na cidade de São Paulo. A autora atribuiu a negatividade no seu trabalho ao
19
20 234 fato de não haver um método específico para pesquisa de *M. bovis* em produtos lácteos que
21
22 235 permita a detecção de baixos níveis de micobactérias, cujas células podem estar injuriadas na
23
24 236 presença de alta carga de microrganismos competidores e de alterações de pH e atividade de
25
26 237 água do processo de fabricação do queijo. Ainda de acordo com Mariconi (2013), é necessário
27
28 238 se considerar a diluição do leite ordenhado de animais infectados ao leite dos saudáveis como
29
30 239 sendo mais um dos fatores que contribuem para dificultar o isolamento do agente em queijos.

31
32
33 240 No Brasil ainda são incipientes os estudos para avaliar a presença de micobactérias em
34
35 241 queijos de coalho. Em pesquisa conduzida por Rocha(2013) em queijos de coalho produzidos no
36
37 242 Estado do Piauí, Brasil, encontrou-se evidências moleculares (mesmo sem ter ocorrido o
38
39 243 isolamento clássico) de *M. bovis* em 10% do material analisado e isso gerou um alerta as
40
41 244 autoridades sobre a necessidade de mais pesquisas visando à busca desse patógeno em
42
43 245 humanos, animais e alimentos, bem como estudos visando à padronização do processo de
44
45 246 produção de queijos artesanais, buscando garantir a inocuidade desse produto. Barros de Melo
46
47 247 et al., (2014), analisaram queijos de vários tipos apreendidos em aeroportos
48
49 248 internacionais (n=147), e o *M. bovis* foi identificado em 18 queijos (17,5%), enquanto *M.*
50
51 249 *avium paratuberculosis* (MAP) foi amplificado em 13 (8,4%). Em outro estudo, conduzido por
52
53
54
55
56
57
58
59
60

250 Cezar et al.(2016) publicou-se a prevalência de 2.8% de *M. bovis* em queijos de coalho
251 artesanais produzidos no agreste do Estado de Pernambuco, Brasil.

252 As MNT são microrganismos ubíquos, geralmente encontrados na água, solo e
253 poeiras. Até pouco tempo não estavam associadas a patogenias em seres humanos, mas
254 recentemente com o advento do diagnóstico molecular passaram a ser constantemente citadas
255 em artigos de pesquisas médicas (FALKINHAM, 2013). Em estudo posterior, Falkinham
256 (2015) atribuiu o aumento crescente de novas espécies de micobactérias a: 1) maior
257 suscetibilidade de indivíduos infectados com o vírus da imunodeficiência humana à infecção
258 por MNT; 2) melhores técnicas para cultura primária de MNT; e 3) detecção de infecção por
259 isolamento direto de DNA e sequenciamento. Estudos recentes de biologia molecular
260 corroboram essas ideias, apresentando novas espécies de micobactérias:
261 *Mycobacterium lehmanni* sp. nov. (NOUIOUI et al., 2017); e *Mycobacterium rutilum* sp.
262 nov. (HENNESSEE et al., 2009). Esses microrganismos foram classificados se utilizando PCR
263 e sequenciamento de *hsp65* e apresentaram alta similaridade genética com outras
264 micobactérias causadoras de infecção em humanos. De acordo com a pesquisa de Nouiouiet al.
265 (2017), a análise BLAST das sequências completas do gene 16S rRNA da cepa *M.*
266 *lehmanni* mostrou similaridade de 98,3% de *Mycobacterium moriokaense* (DSM 44221) e
267 *Mycobacterium novocastresense* (DSM 44203).

268 A ocorrência de micobacterioses por MNT é emergente. Estudos têm relatado a
269 patogenia de microrganismos emergentes, como observado nas publicações de Adékambi;
270 Raoult; Drancourt (2006), no qual os autores recuperaram três isolados idênticos de novas
271 micobactérias de crescimento rápido (RGM) de aspirado brônquico e expectoração de uma
272 mulher de 49 anos com pneumonia, cuja análise da sequência do gene 16S rRNA indicou que
273 as sequências dos isolados eram idênticas e compartilhavam semelhanças de 99,7% e 98,1%
274 com as de *Mycobacterium moriokaense* e *Mycobacterium gadium*, respectivamente; Lamy et

1
2
3 275 al.(2008), mencionaram sobre *Mycobacterium fortuitum*-group causando infecções em
4
5 276 tecidos moles e osteítes em humanos. Em tecidos animais, Thoen (2018) relata o
6
7 277 *Mycobacterium fortuitum* associado à mastite em vacas, infecções pulmonares em cães, lesões
8
9 278 linfonodais em porcos, bem como a lesões cutâneas em gatos e cachorros. Em 2011, Shojaei;
10
11 279 Hashemi; Nasser (2011) relataram dois casos de infecção em humanos causados pelo
12
13 280 *Mycobacterium novocastrense*: sendo um pulmonar e outro de infecção em ferimentos.No
14
15 281 Brasil, estudo de caso publicado porAndrade et al. (2018)relatouacerca de um paciente de
16
17 282 difícil tratamento com infecção mista por tuberculose (TB) e micobactérias não tuberculosas
18
19 283 (MNT), co-infectado com HIV, câncer e outras doenças associadas. Nesse trabalho as
20
21 284 identificações dos isolados foram: Complexo *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium*
22
23 285 *intracellulare/chimaera* e *M. fortuitum*, isolados de amostras pulmonares.

24
25 286 Essas micobactérias são classificadas como Grampositivas, de crescimento rápido em
26
27 287 meio álcool-ácido e facultativamente anaeróbicas. Não são móveis e em cultivo
28
29 288 apresentam coloração amarelo-alaranjada (cor de ferrugem). Esses agentes são de crescimento
30
31 289 rápido e apresentam ótimo desenvolvimento a 37°C, na presença de luz e/ou escuridão, fato
32
33 290 observado após 5 dias em vários meios de cultivo (*Löwenstein-Jensen*; *Middlebrook 7H10*
34
35 291 *agar*; GYM; TSA). Além disso, apresentaram tolerância à salinidade de média a alta (2,5 a
36
37 292 5,0%). Com essas características metabólicas esses micróbios apresentam potencial de
38
39 293 sobrevivência e desenvolvimento em meios assemelhados ao encontrado em queijos de coalho.

40
41 294 A formação de biofilme é uma estratégia de sobrevivência bem-sucedida utilizada por
42
43 295 micobactérias ambientais (SOUSA et al., 2015). Portanto, deficiências na sanidade do
44
45 296 rebanho e ordenha realizada em ambientes onde não se adotam as Boas Práticas
46
47 297 Agropecuárias (BPAs), bem como a elaboração de produtos lácteos em ambientes insalubres
48
49 298 sem serem observadas normas de Boas Práticas de Fabricação (BPFs) são tecnicamente
50
51 299 favoráveis ao desenvolvimento dessas bactérias. Em estudo de Faria et al.(2014), atribuiu-se
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 300 que o manejo sanitário deficiente dos rebanhos leiteiros, bem como os cuidados inadequados
4
5 301 no processamento de queijos, sugere um crescente risco de contaminação por muitos
6
7 302 microrganismos, que depreciam o produto e colocam em risco a saúde humana.

8
9
10 303 Embora seja maior o foco das pesquisas em detectar a presença de *M. bovis* e MAP em
11
12 304 queijos elaborados com leite de vaca, haja vista o já conhecido potencial zoonótico dos
13
14 305 agentes e o hábito de se produzir queijos com leite cru, estudos mais recentes têm direcionado
15
16 306 sua atenção para detectar a ocorrência de outras micobactérias nestes alimentos. Isso pode ser
17
18 307 observado nos trabalhos de Faria et al.(2014), onde se detectou DNA específico para MAP em
19
20 308 10% (3/30) das amostras de queijo de coalho; e mais recentemente, Sarti et al.(2018) analisou
21
22 309 queijos de coalho comercializados no Estado da Paraíba, Brasil, e detectou contaminação de
23
24 310 5% (n=100) com MNT (*M. fortuitum*, *M. novocastrense*), e actinobactérias
25
26 311 (*Bifidobacterium crudilactis*, *Kocuriarhizophila*, e *Kocuria palustres*).

27
28
29
30
31 312

32 313 **CONCLUSÕES**

33
34
35 314 Atualmente as MNT são microrganismos emergentes e por serem de natureza ubíqua
36
37 315 merecem atenção especial, principalmente no que diz respeito às Boas Práticas Agropecuárias
38
39 316 – BPAs, na obtenção do leite, e às Boas Práticas de Fabricação – BPFs, no que se refere à
40
41 317 elaboração de produtos lácteos.

42
43
44 318 Neste estudo diagnosticou-se a presença de MNT (*Mycobacterium rutilum* sp. nov. e
45
46 319 *Mycobacterium lehmannii* sp. nov.). em queijos de coalho comercializados em Caicó, Rio
47
48 320 Grande do Norte. O consumo de queijo de coalho contaminado representa risco à saúde
49
50 321 pública, uma vez que poderá ser um agente difusor de microrganismos. Queijos devem ser
51
52 322 produzidos sob maior controle da inspeção sanitária. Políticas para garantir a qualidade deste
53
54 323 tipo de queijo devem ser implementadas nas regiões de maior produção, o que pode ser
55
56 324 alcançado com o uso de técnicas moleculares.

1
2
3 325
45 326 **AGRADECIMENTOS**6
7 3278
9 328 **CONFLICTS OF INTEREST:**

10 329 The authors declare no conflict of interest. The founding sponsors had no role in the
11
12 330 design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the
13
14 331 manuscript, and in the decision to publish the results.
15
16 332

17
18
19 333 **REFERÊNCIAS**

20
21 334 ADÉKAMBI, T.; RAOULT, D.; DRANCOURT, M. *Mycobacterium barrassiae* sp. nov., a
22
23 335 *Mycobacterium moriokaense* group species associated with chronic pneumonia. **Journal of**
24
25 336 **Clinical Microbiology**, v. 44, n. 10, p. 3493–3498, 2006.

26
27 337 ADESE. **Diagnóstico da Bacia Leiteira do Território Seridó**. Caicó-RN: Colegiado
28
29 338 Territorial do Seridó, 2011.

30
31 339 ANDRADE, L. K. DE et al. *Mycobacterium tuberculosis* e Micobactérias Não Tuberculose
32
33 340 em paciente com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida e Câncer: Relato de caso.
34
35 341 **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 22, n. 1, p. 49–53, 28 mar. 2018.

36
37 342 BARROS DE MELO, C. et al. Bacteria in dairy products in baggage of incoming travelers,
38
39 343 Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 20, n. 11, p. 1933–5, nov. 2014.

40
41 344 BEUVIER, E.; BUCHIN, S. Raw milk cheeses. **Cheese - Chemistry, Physics and**
42
43 345 **Microbiology**, v. 1, p. 319–345, 2005.

44
45 346 BRASIL. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose**
46
47 347 **(PNCEBT) - MANUAL TÉCNICO**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e
48
49 348 Abastecimento., 2006.

50
51 349 CEZAR, R. D. S. et al. Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 350 Pernambuco, Brazil. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 5, n. 3, p. 269–272,
4
5 351 2016.
6
7 352 CHIMARA, E. et al. Reliable identification of mycobacterial species by PCR-restriction
8
9 353 enzyme analysis (PRA)-hsp65 in a reference laboratory and elaboration of a sequence-based
10
11 354 extended algorithm of PRA-hsp65 patterns. **BMC Microbiology**, v. 8, p. 1–12, 2008.
12
13 355 CODEX ALIMENTARIUS. **Code of Hygienic Practice for Milk and Milk**
14
15 356 **ProductsCAC/RPC 57-2004**. [s.l.: s.n.].
16
17 357 DE MEDICI, D. et al. Evaluation of DNA Extraction Methods for Use in Combination with
18
19 358 SYBR Green I Real-Time PCR To Detect Salmonella enterica Serotype Enteritidis in Poultry.
20
21 359 **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 6, p. 3456–3461, 2003.
22
23 360 DE OLIVEIRA, C. A. F. et al. **Pathogenic Bacteria in Cheese, Their Implications for**
24
25 361 **Human Health and Prevention Strategies**. [s.l.] Elsevier Inc., 2017.
26
27 362 FALKINHAM, J. O. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. **Clinical**
28
29 363 **microbiology reviews**, v. 9, n. 2, p. 177–215, abr. 1996.
30
31 364 FALKINHAM, J. O. Ecology of Nontuberculous Mycobacteria—Where Do Human
32
33 365 Infections Come from? **Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 34, n. 01,
34
35 366 p. 095-102, 4 mar. 2013.
36
37 367 FALKINHAM, J. O. Environmental sources of nontuberculous mycobacteria. **Clinics in**
38
39 368 **Chest Medicine**, v. 36, n. 1, p. 35–41, 2015.
40
41 369 FARIA, A. C. S. et al. Short communication: Viable Mycobacterium avium subspecies
42
43 370 paratuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. **Journal of Dairy**
44
45 371 **Science**, v. 97, n. 7, p. 4111–4114, jul. 2014.
46
47 372 FERREIRA NETO, J. S. et al. Analysis of 15 years of the National Program for the Control
48
49 373 and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**,
50
51 374 v. 37, n. 5Supl2, p. 3385, 9 nov. 2016.
52
53
54
55
56
57
58
59
60

- 1
2
3 375 GUPTA, R. S.; LO, B.; SON, J. Phylogenomics and Comparative Genomic Studies Robustly
4
5 376 Support Division of the Genus *Mycobacterium* into an Emended Genus *Mycobacterium* and
6
7 377 Four Novel Genera. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 67, 13 fev. 2018.
- 8
9
10 378 IBGE. **Geociências: Caicó, RN, Brasil - v4.3.11.0.** Disponível em:
11
12 379 <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rn/caico/panorama>>. Acesso em: 8 dez. 2018.
- 13
14 380 LAMY, B. et al. *Mycobacterium setense* sp. nov., a *Mycobacterium fortuitum*-group
15
16 381 organism isolated from a patient with soft tissue infection and osteitis. **International Journal**
17
18 382 **of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, n. 2, p. 486–490, 2008.
- 19
20 383 MARTÍNEZ GONZÁLEZ, S. et al. Non-Tuberculous Mycobacteria. An Emerging Threat?
21
22 384 **Archivos de Bronconeumología (English Edition)**, v. 53, n. 10, p. 554–560, out. 2017.
- 23
24 385 MORICONI, P. R. **Pesquisa de Mycobacterim spp. em queijos minas meia cura obtidos**
25
26 386 **em feiras-livres da cida de São Paulo. Dissertação.** [s.l.] USP, 2013.
- 27
28 387 NOUIOUI, I. et al. Two novel species of rapidly growing mycobacteria: *Mycobacterium*
29
30 388 *lehmannii* sp. nov. and *Mycobacterium neumannii* sp. nov. **International Journal of**
31
32 389 **Systematic and Evolutionary Microbiology**, 2017.
- 33
34 390 ROCCHETTI, T. T. et al. Validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of
35
36 391 *mycobacterium* spp., *mycobacterium tuberculosis* complex, and *mycobacterium avium*
37
38 392 complex directly from clinical samples by use of the BD max open system. **Journal of**
39
40 393 **Clinical Microbiology**, v. 54, n. 6, p. 1644–1647, 2016.
- 41
42 394 ROCHA, B. B. **OCORRÊNCIA DE Mycobacterium bovis EM QUEIJOS COALHO**
43
44 395 **ARTESANAIS E FATORES ASSOCIADOS AO CONSUMO DE LEITE E**
45
46 396 **DERIVADOS LÁCTEOS INFORMAIS.** [s.l.] UFV, 2013.
- 47
48 397 SARTI, E. et al. Detection of Potentially Pathogenic Non-Tuberculous Mycobacteria in
49
50 398 Artisanal Coalho Cheese from the State of Paraíba, Northeast Brazil. **Mycobacterial**
51
52 399 **Diseases**, v. 8, n. 3, 2018.
- 53
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3 400 SHOJAEI, H.; HASHEMI, A. . AND; NASSER, A. D. . Mycobacterium novocastrense –
4
5 401 associated Pulmonary and Wound Infections. **Emergencing Infectious Diseases**, v. 17, n. 3,
6
7 402 p. 550–551, 2011.

8
9
10 403 THOEN, C. O. Mycobacterial Infections Other than Tuberculosis. In: MERCK SHARP &
11
12 404 DOHME CORP. (Ed.). **Merck Veterinary Manual**. On-line Ve ed. Kenilworth, NJ, USA:
13
14 405 MSD ANIMAL, 2018.

16
17 406
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Review Only

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Com o presente trabalho foi possível se conhecer a atual situação epidemiológica da tuberculose humana no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, no período de 2008 a 2017. A doença está presente em todo território Potiguar, havendo registros das três formas da doença em todas as Unidades Regionais de Saúde (URSAPs), com forte predomínio da forma pulmonar desta bacteriose. Porém, chamou atenção a ocorrência de registros da forma extrapulmonar, a qual apresenta forte correlação com a TB zoonótica em humanos, principalmente no território da IV URSAP (Caicó-RN). Sabe-se que clinicamente não é possível distingui-las, sendo necessário a realização de cultivo bacteriológico. Segundo dados do Sinan, no RN apenas 12,6% destes casos novos são submetidos a cultivo, evidenciando carência de investimentos nos serviços do Programa de controle da doença. Também foi possível se avaliar a qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Caicó-RN, pesquisando-se a presença de *Mycobacterium* spp através de cultivo e diagnóstico molecular. Como resultado, não se detectou micobactérias do CMT no material analisado; porém, das 50 amostras analisadas, em duas dessas (4%) foi possível identificar a presença de micobactérias não tuberculosas (MNTs): *Mycobacterium lehmanii* e *Mycobacterium rutilum*. As MNTs são microrganismos ubíquos, insinuando a existência de contaminação ambiental destes queijos. Conhecendo-se as características destas micobactérias, sugere-se aos serviços oficiais darem maior atenção à cadeia produtiva de queijos, tanto em relação às boas práticas agropecuárias (BPAs) quanto nas boas práticas de fabricação (BPFs).

ANEXOS



ACSA

AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO



CAPA SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO PESQUISA ATUAL ANTERIORES NOTÍCIAS

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

Capa > Sobre a revista > **Submissões**

SUBMISSÕES

- Submissões Online
- Diretrizes para Autores
- Declaração de Direito Autoral
- Política de Privacidade

SUBMISSÕES ONLINE

Já possui um login/senha de acesso à revista AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO?

ACESSO

Não tem login/senha?
ACESSE A PÁGINA DE CADASTRO

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso.

DIRETRIZES PARA AUTORES

MODELO PARA SUBMISSÃO (DOWNLOAD)

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Línguas e áreas de estudo

Os artigos submetidos à Revista Agropecuária podem ser elaborados em Português, Inglês ou Espanhol e devem ser produto de pesquisa nas áreas de Ciências Agrárias, Biologia, Agroecologia.

Composição sequencial do artigo

- Título: no máximo com 15 palavras, em que apenas a primeira letra da primeira palavra deve ser maiúscula; entretanto, quando o título tiver um subtítulo, ou seja, com dois pontos (:), a primeira letra da primeira palavra do subtítulo (ao lado direito dos dois pontos) deve ser maiúscula;
- O artigo deverá ter no máximo seis autores;
- Resumo: no máximo com 200 palavras;
- Palavras-chave: no mínimo três e no máximo cinco, não constantes no Título, separadas por vírgula e com todas as letras minúsculas;
- Título em inglês: terá a mesma normatização do título em Português ou em Espanhol;
- Abstract: no máximo com 200 palavras, devendo ser tradução fiel do Resumo. A casa decimal dos números deve ser indicada por ponto ao invés de vírgula;
- Keywords: terá a mesma normatização das palavras-chave;
- Introdução: destacar a relevância da pesquisa, inclusive através de revisão de literatura, em no máximo 2 páginas. Não devem existir, na Introdução, equações, tabelas, figuras nem texto teórico básico sobre determinado assunto, mas, sim, sobre resultados de pesquisa;
- Material e Métodos: deve conter informações imprescindíveis que possibilitem a repetição da pesquisa, por outros pesquisadores;
- Resultados e Discussão: os resultados obtidos devem ser discutidos e interpretados à luz da literatura;
- Conclusões: devem ser numeradas e escritas de forma sucinta, isto é, sem comentários nem explicações adicionais, baseando-se apenas nos resultados apresentados;
- Agradecimentos (facultativo);
- Referências Bibliográficas: O artigo submetido deve ter obrigatoriamente 70% de referências de periódicos, sendo 40% dos últimos oito anos. Não serão aceitas citações bibliográficas do tipo apud ou citado por, ou seja, as citações deverão ser apenas das referências originais. Solicitamos caso seja possível, citar nossos artigos publicado desde que atenda ao assunto pesquisado.

Para os artigos escritos em Inglês, título, resumo e palavras-chave deverão, também, constar em Português e, para os artigos em Espanhol, em Inglês; vindo em ambos os casos primeiro no idioma principal. Outros tipos de contribuição (Revisão de Literatura e Nota Prévía) para a revista poderão ter a sequência adaptada ao assunto.

Procedimentos para análise de artigos

- Numa primeira etapa, todos os artigos serão submetidos a pré-seleção e aqueles que não se enquadrarem na política de publicação da Revista ou, ainda, que não tragam contribuição científica relevante, serão recusados pela Equipe Editorial, com o auxílio de parecer de um Consultor. Os artigos pré-selecionados poderão, por recomendação do Consultor, ser devolvidos ao(s) autor(es) para reformulação, antes de serem encaminhados para uma análise mais aprofundada, por parte de três Consultores e revisor de idiomas;
- Com o auxílio dos pareceres e sugestões de Consultores sobre a primeira versão do artigo, a Equipe Editorial poderá recusá-lo ou solicitar ao(s) autor(es) uma segunda versão, que será novamente avaliada, tanto pelos Consultores como pela Equipe Editorial. Em sua segunda versão, o artigo poderá ser recusado, aprovado e/ou devolvido ao(s) autor(es) para uma terceira versão;
- Salienta-se que, independente dos pareceres dos Consultores, cabe à Equipe Editorial, em qualquer etapa de análise (pré-seleção e seleção - 1a, 2a e 3a versões), a decisão final sobre a aprovação do artigo e o direito de sugerir ou solicitar modificações no texto, julgadas necessárias; d) A princípio, as sugestões dos Consultores e da Equipe Editorial ao texto dos artigos deverão ser incorporadas pelo(s) autor(es); entretanto, o(s) mesmo(s) tem(êm) o direito de não aceitá-las, mediante justificativa expressa, que será analisada pelo(s) Consultor(es) e pela Equipe Editorial.
- No caso de aprovação o artigo é encaminhado para uma nova revisão de idiomas e, antes de sua diagramação, se necessário serão solicitadas, ao autor correspondente, informações complementares. Posteriormente, o artigo lido é enviado na forma de documento pdf, para revisão final, o qual comunicará à Equipe Editorial sobre eventuais correções e alterações. Após a incorporação, pela Equipe de Diagramação, das correções solicitadas, os arquivos em formato pdf de determinado número serão disponibilizados no site da Revista;
- Após publicação, quaisquer erros encontrados por parte de autores ou leitores, quando comunicados à Equipe Editorial, serão corrigidos.

OPEN JOURNAL SYSTEMS

Ajuda do sistema

USUÁRIO

Logado como:
gbmvet
Perfil
Sair do sistema

NOTIFICAÇÕES

Visualizar (3 nova(s))
Gerenciar

IDIOMA

Selecione o idioma

Português (Brasil) ▼
Submeter

CONTEÚDO DA
REVISTA

Pesquisa

Escopo da Busca

Todos ▼
Pesquisar

Procurar
Por Edição
Por Autor
Por título

TAMANHO DE FONTE

INFORMAÇÕES

Para leitores
Para Autores
Para Bibliotecários

Informações Adicionais

a) Os assuntos, dados e conceitos emitidos nesta Revista, são de exclusiva responsabilidade dos autores. A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de utilização por parte da Revista. A reprodução dos artigos publicados é permitida, desde que seja citada a fonte;

b) Os autores terão o prazo máximo para devolução dos artigos corrigidos de quarenta e cinco dias, a partir da data da correspondência da Secretaria da Revista ACSA; o não cumprimento deste prazo resultará automaticamente em seu cancelamento.

DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL

Termo de cessão de direitos autorais da Revista Agropecuária Científica no Semiárido:

Esta é uma revista de acesso livre, onde, utiliza o termo de cessão seguindo a lei nº 9.610/1998, que altera, atualiza e consolida a legislação sobre direitos autorais no Brasil.

Autores que publicam na Revista Agropecuária Científica no Semiárido(ACSA) concordam com os seguintes termos:O(s) autor(es) doravante designado(s) CEDENTE, por meio desta, cede e transfere, de forma gratuita, a propriedade dos direitos autorais relativos à OBRA à Revista Agropecuária Científica no Semiárido(ACSA), representada pelo CSTR/UFCG, estabelecida no Campus de Patos-PB doravante designada CESSIONÁRIA, nas condições descritas a seguir:

O CEDENTE declara que é (são) autor(es) e titular(es) da propriedade dos direitos autorais da OBRA submetida;

O CEDENTE declara que a OBRA não infringe direitos autorais e/ou outros direitos de propriedade de terceiros, que a divulgação de imagens (caso as mesmas existam) foi autorizada e que assume integral responsabilidade moral e/ou patrimonial, pelo seu conteúdo, perante terceiros;

O CEDENTE cede e transfere todos os direitos autorais relativos à OBRA à CESSIONÁRIA, especialmente os direitos de edição, de publicação, de tradução para outro idioma e de reprodução por qualquer processo ou técnica através da assinatura deste termo impresso que deverá ser submetido via correios ao endereço informado no início deste documento;

A CESSIONÁRIA passa a ser proprietária exclusiva dos direitos referentes à OBRA, sendo vedada qualquer reprodução, total ou parcial, em qualquer outro meio de divulgação, impresso ou eletrônico, sem que haja prévia autorização escrita por parte da CESSIONÁRIA.

POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Política de Acesso Livre

Esta revista oferece acesso livre imediato ao seu conteúdo, seguindo o princípio de que disponibilizar gratuitamente o conhecimento científico ao público proporciona maior democratização mundial do conhecimento.



ACSA

AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO



CAPA SOBRE PÁGINA DO USUÁRIO PESQUISA ATUAL ANTERIORES NOTÍCIAS
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL

Capa > Usuário > Autor > Submissões > #1121 > **Resumo**

#1121 SINOPSE

RESUMO AVALIAÇÃO EDIÇÃO

SUBMISSÃO

Autores Giovanni Brito Medeiros, Pirajá Saraiva Bezerra Neto, Vitória Viviane Ferreira de Aquino, Severino Silvano dos Santos Hígino, Rosália Severo de Medeiros, Onaldo Guedes Rodrigues
Título Comportamento da tuberculose humana no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre 2008 e 2017.
Documento original 1121-4215-1-SM.DOCX 2019-01-30
Docs. sup. Nenhum(a) [INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR](#)
Submetido por Giovanni Brito Medeiros
Data de submissão janeiro 30, 2019 - 05:33
Seção Original Articles / Artigos de Pesquisa
Editor Nenhum(a) designado(a)
Comentários do Autor Este Artigo foi produzido como parte da Dissertação de Giovanni Brito Medeiros, matriculado sob o número **2017.1.03.006** junto ao PPGZ/UFCG, Campus Patos.

SITUAÇÃO

Situação Aguardando designação
Iniciado 2019-01-30
Última alteração 2019-01-31

METADADOS DA SUBMISSÃO

EDITAR METADADOS

AUTORES

Nome Giovanni Brito Medeiros
ORCID iD <http://orcid.org/0000-0003-1020-0332>
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Médico Veterinário Sanitarista, CRMV-RN 0127, Mestrando em Ciência Animal UFCG

Nome Pirajá Saraiva Bezerra Neto
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Médico Veterinário, Mestrando em Ciência Animal UFCG

Nome Vitória Viviane Ferreira de Aquino
ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-5755-3544>
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Médica Veterinária, Mestranda em Ciência Animal UFCG

Nome Severino Silvano dos Santos Hígino
ORCID iD <http://orcid.org/0000-0002-1784-7481>
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Prof. Dr. Medicina Veterinária UFCG

Nome Rosália Severo de Medeiros
ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-8101-5121>
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Profª. Dra. Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas UFCG

Nome Onaldo Guedes Rodrigues
ORCID iD <http://orcid.org/0000-0001-9875-3235>
Instituição/Afiliação Universidade Federal de Campina Grande - UFCG
País Brasil
Resumo da Biografia Prof. PhD. Titular Ciências Biológicas UFCG
Contato principal para correspondência.

TÍTULO E RESUMO

Título Comportamento da tuberculose humana no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil, entre 2008 e 2017.
Resumo

Objetivo: Sabe-se que a tuberculose (Tb) é mundialmente uma das 10 principais causas de morte humana e é tida como a principal causadora de óbitos por um único agente infeccioso. A região das Américas representa 3% da prevalência mundial da doença, dos quais 33% são atribuídos ao Brasil, sendo esse um dos 22 países priorizados pela OMS, e que juntos representam 80% da ocorrência mundial desta bacteriose. O presente estudo objetivou descrever sobre o comportamento da doença no estado do Rio Grande do Norte, Brasil, no período de 2008 a 2017.

Metodologia: trata-se de estudo descritivo, retrospectivo, que avalia a incidência anual da tuberculose no estado do Rio Grande do Norte e ocorrência de suas formas clínicas. Os dados primários foram obtidos

OPEN JOURNAL SYSTEMS

Ajuda do sistema

USUÁRIO

Logado como:
gbmvet
 Perfil
 Sair do sistema

AUTOR

Submissões
 Ativo (1)
 Arquivo (0)
 Nova submissão

NOTIFICAÇÕES

Visualizar (3 nova(s))
 Gerenciar

IDIOMA

Seleção o idioma

Português (Brasil) ▼

Submeter

CONTEÚDO DA
 REVISTA

Pesquisa

Escopo da Busca

Todos ▼

Pesquisar

Procurar

Por Edição
 Por Autor
 Por título

TAMANHO DE FONTE

INFORMAÇÕES

Para leitores
 Para Autores
 Para Bibliotecários

junto ao Programa de Tuberculose no Rio Grande do Norte, da Subcoordenadoria de Vigilância Epidemiológica – SUVIGE/SESAP-RN, enquanto os dados secundários foram colhidos junto ao Sinan/Ministério da Saúde.

Resultados e Discussão: Observou-se haver divergência entre os coeficientes de incidência calculados com dados primários daqueles que estão publicados em Boletins Epidemiológicos: 37,1 a 27,0, por grupo de 100 mil habitantes; além disso, a doença apresentou tendência linear de crescimento no Rio Grande do Norte.

Considerações finais: Medidas amplas de proteção à população e ao meio ambiente, bem como o fortalecimento dos serviços de saúde são essenciais para que se consiga atingir as metas propostas no End TB, sejam de controle e/ou de erradicação.

INDEXAÇÃO

Área e sub-área do Conhecimento	Ciências Agrárias, Sanidade Animal
Palavras-chave	Ciência Animal
Geo-espacial	Brasil
Cronológica ou histórica	—
Características da amostragem da pesquisa	—
Idioma	pt

AGÊNCIAS DE FOMENTO

Agências	—
----------	---

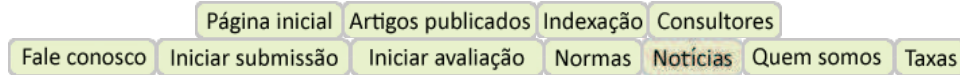
REFERÊNCIAS

Referências	<p>ADESE. Diagnóstico da Bacia Leiteira do Território Seridó. Caicó-RN: Colegiado Territorial do Seridó, 2011.</p> <p>ARAÚJO, K. M. da F. A. et al. Evolução da distribuição espacial dos casos novos de tuberculose no município de Patos (PB), 2001-2010. <i>Cadernos Saúde Coletiva</i>, v. 21, n. 3, p. 296–302, 2013.</p> <p>BRASIL. REGIONALIZAÇÃO DA ASSISTÊNCIA À SAÚDE: APROFUNDANDO A DESCENTRALIZAÇÃO COM EQUIDADE NO ACESSO. [s.l.: s.n.]. Disponível em: BRASIL. Brasil Livre da tuberculose. 1a ed. Brasília-DF: Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde Ministério da saúde , 2017a.</p> <p>BRASIL, Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Indicadores prioritários para o monitoramento do Plano Nacional pelo Fim da Tuberculose como Problema de Saúde Pública no Brasil. <i>Boletim Epidemiológico</i>, v. 48, n. 8, p. 11, 2017b.</p> <p>CEZAR, R. D. S. et al. Detection of Mycobacterium bovis in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. <i>International Journal of Mycobacteriology</i>, v. 5, n. 3, p. 269–272, 2016.</p> <p>FARIA, A. C. S. et al. Short communication: Viable Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. <i>Journal of Dairy Science</i>, v. 97, n. 7, p. 4111–4114, jul. 2014..</p> <p>HINO, B. et al. A OCORRÊNCIA DA TUBERCULOSE EM UM DISTRITO ADMINISTRATIVO DO MUNICÍPIO DE SÃO PAULO. <i>Escola Anna Nery Revista de Enfermagem Universidade Federal do Rio de Janeiro</i>, v. 17, n. 1, p. 153–159, 2013.</p> <p>MABLESON, H. E. et al. Neglected Zoonotic Diseases—The Long and Winding Road to Advocacy. <i>PLoS Neglected Tropical Diseases</i>, v. 8, n. 6, p. e2800, 5 jun. 2014.</p> <p>PEREIRA, A. G. L. et al. Análise espacial de casos de tuberculose e associação com fatores socioeconômicos: uma experiência no município do Rio de Janeiro. <i>Cadernos Saúde Coletiva</i>, v. 26, n. 2, p. 203–210, jun. 2018.</p> <p>SILVA, M. R. et al. Risk factors for human mycobacterium bovis infections in an urban area of Brazil. <i>Memorias do Instituto Oswaldo Cruz</i>, v. 113, n. 8, p. 1–6, 2018.</p> <p>THOEN, C. O. et al. Tuberculosis: a re-emerging disease in animals and humans. <i>International Journal on Tuberculosis and Lung Disease</i>, v. 14, n. 9, p. 1075–1078, 2010.</p> <p>WHO. Global tuberculosis report - 2018. Geneva: WHO - World Health Organization, 2018.</p>
-------------	---



ISSN Eletrônico: 1678-4596

Português | English | Esp



Normas para publicação

1. CIÊNCIA RURAL - Revista Científica do Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria publica artigos científicos, revisões bibliográficas e notas referentes à área de Ciências Agrárias, que deverão ser destinados com exclusividade.

2. Os **artigos científicos**, **revisões** e **notas** devem ser encaminhados via eletrônica e editados **preferencialmente em idioma Inglês**. Os encaminhados em Português poderão ser traduzidos após a 1ª rodada de avaliação para que ainda sejam revisados pelos consultores ad hoc e editor associado em rodada subsequente. Entretanto, caso **não traduzidos** nesta etapa e se **aprovados** para publicação, terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o Inglês** por empresas credenciadas pela Ciência Rural e obrigatoriamente terão que apresentar o certificado de tradução pelas mesmas para seguir tramitação na CR.

Empresas credenciadas:

- American Journal Experts (<http://www.journalexperts.com/>)
- Bioedit Scientific Editing (<http://www.bioedit.co.uk/>)
- BioMed Proofreading (<http://www.biomedproofreading.com>)
- Edanz (<http://www.edanzediting.com>)
- Editage (<http://www.editage.com.br/>) 10% discount for CR clients. Please inform Crural10 code.
- Enago (<http://www.enago.com.br/forjournal/>) Please inform CIRURAL for special rates.
- GlobalEdico (<http://www.globaledico.com/>)
- JournalPrep (<http://www.journalprep.com>)
- Liberty Medical Communications (<http://libertymedcom.com/>)
- Paulo Boschcov (paulo@bridgetextos.com.br, bridge.textecn@gmail.com)
- Proof-Reading-Service.com (<http://www.proof-reading-service.com/pt/>)
- Readytopub (<https://www.readytopub.com/home>)

O trabalho após tradução e o respectivo certificado devem ser enviados para: rudiweiblen@gmail.com

As despesas de tradução serão por conta dos autores. Todas as linhas deverão ser numeradas e paginadas no lado inferior direito. O trabalho deverá ser digitado em tamanho A4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaço duplo, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será **15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras**. Figuras, gráficos e tabelas devem ser disponibilizados ao final do texto e individualmente por página, sendo que não poderão ultrapassar as margens e **nem estar com apresentação paisagem**.

Tendo em vista o formato de publicação eletrônica estaremos considerando manuscritos com páginas adicionais além dos limites acima. No entanto, os trabalhos aprovados que possuírem páginas além do estipulado terão um custo adicional para a publicação ([vide taxa](#)).

3. O artigo científico (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução com Revisão de Literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição; Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

4. A revisão bibliográfica (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

5. A nota (Modelo [.doc](#), [.pdf](#)) **deverá conter os seguintes tópicos:** Título (Português e Inglês); Resumo; Palavras-chave; Abstract; Key words; Texto (sem subdivisão, porém com introdução; metodologia; resultados e discussão e conclusão; podendo conter tabelas ou figuras); Referências e Declaração de conflito de interesses. Agradecimento(s) e Apresentação; Contribuição dos autores; Fontes de Aquisição e Informe Verbal; Comitê de Ética e Biossegurança devem aparecer antes das referências. **Pesquisa envolvendo seres humanos e animais obrigatoriamente devem apresentar parecer de aprovação de um comitê de ética institucional já na submissão.** Alternativamente pode ser enviado um dos modelos ao lado ([Declaração Modelo Humano](#), [Declaração Modelo Animal](#)).

6. O preenchimento do campo "cover letter" deve apresentar, obrigatoriamente, as seguintes informações em inglês, **exceto** para artigos **submetidos em português** (lembrando que preferencialmente os artigos devem ser submetidos em inglês).

- a) What is the major scientific accomplishment of your study?
- b) The question your research answers?
- c) Your major experimental results and overall findings?
- d) The most important conclusions that can be drawn from your research?
- e) Any other details that will encourage the editor to send your manuscript for review?

Para maiores informações acesse o seguinte [tutorial](#).

7. Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no formato pdf no endereço eletrônico da revista www.scielo.br/cr.

8. Descrever o título em português e inglês (caso o artigo seja em português) - inglês e português (caso o artigo seja em inglês). Somente a primeira letra do título do artigo deve ser maiúscula exceto no caso de nomes próprios. Evitar abreviaturas e nomes científicos no título. O nome científico só deve ser empregado quando estritamente necessário. Esses devem aparecer nas palavras-chave, resumo e demais seções quando necessários.

9. As citações dos autores, no texto, deverão ser feitas com letras maiúsculas seguidas do ano de publicação, conforme exemplos: Esses resultados estão de acordo com os reportados por MILLER & KIPLINGER (1966) e LEE et al. (1996), como uma má formação congênita (MOULTON, 1978).

10. Nesse [link](#) é disponibilizado o **arquivo de estilo** para uso com o software **EndNote** (o EndNote é um software de gerenciamento de referências, usado para gerenciar bibliografias ao escrever ensaios e artigos). Também é disponibilizado nesse [link](#) o **arquivo de estilo** para uso com o software **Mendeley**.

11. As Referências deverão ser efetuadas no estilo ABNT (NBR 6023/2000) conforme normas próprias da revista.

11.1. Citação de livro:

JENNINGS, P.B. **The practice of large animal surgery**. Philadelphia : Saunders, 1985. 2v.

TOKARNIA, C.H. et al. (Mais de dois autores) **Plantas tóxicas da Amazônia a bovinos e outros herbívoros**. Manaus : INPA, 1979. 95p.

11.2. Capítulo de livro com autoria:

GORBAMAN, A. A comparative pathology of thyroid. In: HAZARD, J.B.; SMITH, D.E. **The thyroid**. Baltimore : Williams & Wilkins, 1964. Cap.2, p.32-48.

11.3. Capítulo de livro sem autoria:

COCHRAN, W.C. The estimation of sample size. In: _____. **Sampling techniques**. 3.ed. New York : John Wiley, 1977. Cap.4, p.72-90.

TURNER, A.S.; McILWRAITH, C.W. Fluidoterapia. In: _____. **Técnicas cirúrgicas em animais de grande porte**. São Paulo : Roca, 1985. p.29-40.

11.4. Artigo completo:

O autor deverá acrescentar a url para o artigo referenciado e o número de identificação DOI (Digital Object Identifiers), conforme exemplos abaixo:

MEWIS, I.; ULRICH, CH. Action of amorphous diatomaceous earth against different stages of the stored product pests *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Journal of Stored Product Research**, Amsterdam (Cidade opcional), v.37, p.153-164, 2001. Available from: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X\(00\)00016-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-474X(00)00016-3)>. Accessed: Mar. 18, 2002. doi: 10.1016/S0022-474X(00)00016-3.

PINTO JUNIOR, A.R. et al (Mais de 2 autores). Response of *Sitophilus oryzae* (L.), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) to different concentrations of diatomaceous earth in bulk stored wheat. **Ciência Rural**, Santa Maria (Cidade opcional), v. 38, n. 8, p.2103-2108, nov. 2008. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000800002&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2009. doi: 10.1590/S0103-84782008000800002.

SENA, D. A. et al. Vigor tests to evaluate the physiological quality of corn seeds cv. 'Sertanejo'. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 47, n. 3, e20150705, 2017. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782017000300151&lng=pt&nrm=iso>. Accessed: Mar. 18, 2017. Epub 15-Dez-2016. doi: 10.1590/0103-8478cr20150705 (Artigo publicado eletronicamente).

11.5. Resumos:

RIZZARDI, M.A.; MILGIORANÇA, M.E. Avaliação de cultivares do ensaio nacional de girassol, Passo Fundo, RS, 1991/92. In: JORNADA DE PESQUISA DA UFSM, 1., 1992, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria : Pró-reitoria de Pós-graduação e Pesquisa, 1992. V.1. 420p. p.236. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.6. Tese, dissertação:

COSTA, J.M.B. **Estudo comparativo de algumas características digestivas entre bovinos (Charolês) e bubalinos (Jafarabad)**. 1986. 132f. Monografia/Dissertação/Tese (Especialização/ Mestrado/Doutorado em Zootecnia) - Curso de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Santa Maria. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.7. Boletim:

ROGIK, F.A. **Indústria da lactose**. São Paulo : Departamento de Produção Animal, 1942. 20p. (Boletim Técnico, 20). (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

11.8. Informação verbal:

Identificada no próprio texto logo após a informação, através da expressão entre parênteses. Exemplo: ... são achados descritos por Vieira (1991 - Informe verbal). Ao final do texto, antes das Referências Bibliográficas, citar o endereço completo do autor (incluir E-mail), e/ou local, evento, data e tipo de apresentação na qual foi emitida a informação.

11.9. Documentos eletrônicos:

MATERA, J.M. **Afeções cirúrgicas da coluna vertebral: análise sobre as possibilidades do tratamento cirúrgico**. São Paulo : Departamento de Cirurgia, FMVZ-USP, 1997. 1 CD. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

GRIFON, D.M. Arthroscopic diagnosis of elbow displasia. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 31., 2006, Prague, Czech Republic. **Proceedings...** Prague: WSAVA, 2006. p.630-636. Online. Available from: <<http://www.ivos.org/proceedings/wsava/2006/lecture22/Griffon1.pdf?LA=1>>. Accessed: Mar. 18, 2005 (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

UFRGS. **Transgênicos**. Zero Hora Digital, Porto Alegre, 23 mar. 2000. Especiais. Online. Available from: <<http://www.zh.com.br/especial/index.htm>>. Accessed: Mar. 18, 2001(OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

ONGPHIPHADHANAKUL, B. Prevention of postmenopausal bone loss by low and conventional doses of calcitriol or conjugated equine estrogen. **Maturitas**, (Ireland), v.34, n.2, p.179-184, Feb 15, 2000. Obtido via base de dados MEDLINE. 1994-2000. Online. Available from: <<http://www.Medscape.com/server-java/MedlineSearchForm>>. Accessed: Mar. 18, 2007.

MARCHIONATTI, A.; PIPPI, N.L. Análise comparativa entre duas técnicas de recuperação de úlcera de córnea não infectada em nível de estroma médio. In: SEMINARIO LATINOAMERICANO DE CIRURGIA VETERINÁRIA, 3., 1997, Corrientes, Argentina. **Anais...** Corrientes : Facultad de Ciencias Veterinarias - UNNE, 1997. Disquete. 1 disquete de 31/2. Para uso em PC. (OBS.: tentar evitar esse tipo de citação).

12. Desenhos, gráficos e fotografias serão denominados figuras e terão o número de ordem em algarismos arábicos. A revista não usa a denominação quadro. As figuras devem ser disponibilizadas individualmente por página. Os desenhos figuras e gráficos (com largura de no máximo 16cm) devem ser feitos em editor gráfico sempre em qualidade máxima com pelo menos 300 dpi em extensão .tiff. As tabelas devem conter a palavra tabela, seguida do número de ordem em algarismo arábico e não devem exceder uma lauda.

13. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos serão de inteira responsabilidade do(s) autor(es).
14. Será obrigatório o cadastro de todos autores nos metadados de submissão. O artigo não tramitará enquanto o referido item não for atendido. Excepcionalmente, mediante consulta prévia para a Comissão Editorial outro expediente poderá ser utilizado.
15. Lista de verificação (Checklist [.doc](#), [.pdf](#)).
16. Os artigos serão publicados em ordem de aprovação.
17. Os artigos não aprovados serão arquivados havendo, no entanto, o encaminhamento de uma justificativa pelo indeferimento.
18. Em caso de dúvida, consultar artigos de fascículos já publicados antes de dirigir-se à Comissão Editorial.
19. Todos os artigos encaminhados devem pagar a [taxa de tramitação](#). Artigos reencaminhados (**com decisão de Reject and Resubmit**) deverão pagar a taxa de tramitação novamente. Artigos arquivados por **decurso de prazo** não terão a taxa de tramitação reembolsada.
20. Todos os artigos submetidos passarão por um processo de verificação de plágio usando o programa "Cross Check".

21. Contribuição dos autores

Para se qualificar para a autoria do manuscrito submetido, todos os autores listados deveriam ter contribuições intelectuais substanciais tanto para a pesquisa quanto para sua preparação. Por favor, use um dos exemplos abaixo ou faça o seu.

Exemplo um

RW, RA e RCNO conceberam e projetaram experimentos. WC, LM e AA realizaram os experimentos, BB realizou as análises laboratoriais. BB supervisionou e coordenou os experimentos com animais e forneceu dados clínicos. BB realizou análises estatísticas de dados experimentais. WC, MB e NO prepararam o rascunho do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo dois

Todos os autores contribuíram igualmente para a concepção e redação do manuscrito. Todos os autores revisaram criticamente o manuscrito e aprovaram a versão final.

Exemplo três

Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.



Ciência Rural
 Universidade Federal de Santa Maria - Centro de Ciências Rurais
 Prédio 42, Sala 3104 97105-900 - Santa Maria, RS, Brasil
 E-mail: cienciarural@mail.ufsm.br
 Fone/Fax: (55) 32208698
 Fax: (55) 32208695



Pesquisa de *Mycobacterium* spp. em queijos de coalho comercializados no município de Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil.

Journal:	<i>Ciência Rural</i>
Manuscript ID	CR-2019-0039
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	<i>Mycobacterium</i> spp.;, <i>Mycobacterium lehmanii</i>, <i>Mycobacterium rutilum</i>, queijo de coalho, PCR

