

# Ocorrência de *Coxiella burnetii* em queijo Minas artesanal de leite cru: resultados preliminares de um preocupante problema de saúde pública

## *Occurrence of Coxiella burnetii in Minas raw milk cheese: preliminar results of a worrisome public health problem*

Tatiana Rozental<sup>1</sup>; Letícia Scafutto de Faria<sup>2</sup>; Márcio Roberto Silva<sup>3\*</sup>; João Batista Ribeiro<sup>3</sup>; Flávio Ribeiro Araújo<sup>4</sup>; Ronaldo Rodrigues da Costa<sup>5</sup>; Elba Regina Sampaio de Lemos<sup>1</sup>

### RESUMO

**Introdução:** O modo de fabricar o queijo Minas artesanal (QMA) na microrregião do Serro foi considerado patrimônio histórico imaterial da humanidade desde 2008. Mesmo produzido a partir de leite cru, foi autorizado para consumo.

**OBJETIVOS:** Estimar a prevalência de *Coxiella burnetii* em QMA produzido na microrregião de Serro. **Métodos:** Foram avaliadas as evidências do patógeno (presença de DNA) em queijos de produtores cadastrados no Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), com tempos de maturação de 4 e 8 dias à temperatura ambiente. **Resultados:** Os resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR) e sequenciamento de DNA mostraram que as prevalências de *Coxiella burnetii* no QMA do Serro foram de 5 (9,43%, IC95% 3,1 a 20,7%) positivas entre as 53 analisadas. **Conclusões:** Essa foi a primeira vez que esse patógeno, considerado padrão histórico na definição do binômio tempo-temperatura, foi pesquisado nesses queijos de leite cru no Brasil, mas ainda não há legislação nacional específica ou controle para o patógeno no leite cru e seus derivados. Como essa alta prevalência de *Coxiella burnetii* em queijos analisados pode implicar riscos potenciais à saúde pública, medidas de controle mais rigorosas direcionadas à saúde animal, leite cru e agroindústrias produtoras de leite cru são necessárias para garantir a segurança do alimento.

**Palavras-chave:** *Coxiella burnetii*; Zoonose; Febre Q; Queijo Minas Artesanal; Leite Cru.

1. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil
2. Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
3. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
4. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil
5. Hospital Regional de João Penido, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

\* **Autor correspondente:** M. R. SILVA, Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco, 36038-330, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil  
E-mail: marcio-roberto.silva@embrapa.br

### ABSTRACT

**Introduction:** The way of manufacturing the artisanal Minas cheese (QMA) in the micro-region of Serro was considered an immaterial historical heritage of mankind since 2008. Even produced from raw milk, it was authorized for consumption. **Objectives:** To estimate the prevalence of *Coxiella burnetii* in QMA produced in the Serro micro region. **Methods:** Evidence of pathogen (presence of DNA) in producer cheeses registered at the Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), with maturation times of 4 and 8 days at room temperature, was evaluated. **Results:** Polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequencing results showed that the prevalence of *Coxiella burnetii* in Serum QMA was 5 (9.43%, CI95% 3.1 to 20.7%) positive among the 53 analyzed. **Conclusions:** This was the first time that this pathogen, considered a historical standard in the definition of the time-temperature binomial, was investigated in these raw milk cheeses in Brazil, but there is still no specific national legislation or control for the pathogen in raw milk and its derivatives. As this high prevalence of *Coxiella burnetii* in cheeses analyzed may entail potential risks to public health, stricter control measures directed at animal health, raw milk and raw milk producing agroindustries are necessary to ensure food safety.

**Keywords:** *Coxiella burnetii*; zoonosis; Q fever; Cheese Mines; Raw milk.

## INTRODUÇÃO

---

O queijo Minas artesanal (QMA) é provavelmente o queijo mais tradicional e antigo do Brasil, com origem na colonização portuguesa, quando trouxeram para o Brasil o gado e sua receita.<sup>1-3</sup>

Duas entre sete grandes regiões produtoras do Estado de Minas Gerais foram consideradas Patrimônio Histórico Imaterial da Humanidade a ser preservado desde 2008, pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional.<sup>3</sup>

O QMA representa o principal sustento de vários pequenos produtores neste Estado, que produzem cerca de 70.000 toneladas desse tipo de queijo por ano.<sup>4</sup>

A fabricação do QMA é historicamente caracterizada pelo uso de leite cru, recém-ordenhado com acréscimo de um soro fermento endógeno chamado “pingo”. Ao usar o leite cru como base em sua fabricação, o QMA pode veicular particularmente patógenos zoonóticos, como *Coxiella burnetii*, que causa a doença febre Q.

Os reservatórios mais comuns deste patógeno são bovinos, ovinos e caprinos;<sup>5</sup> o qual encontra-se na urina, fezes, leite, placenta e envoltórios fetais de animais infectados.<sup>6</sup> As infecções humanas ocorrem principalmente após as pessoas inalarem aerossóis contaminados<sup>5</sup> e, raramente, depois de ingerirem leite cru ou derivados deste.<sup>7,8</sup>

Em humanos, a infecção pode ser assintomática ou pode se manifestar em padrões agudos ou crônicos. Particularmente, a febre Q aguda é caracterizada por uma doença semelhante à gripe ou por uma pneumonia ou hepatite atípica, enquanto a doença crônica é acompanhada por endocardite, síndrome da fadiga crônica e abortos repetidos.<sup>9</sup>

A febre Q é considerada um importante problema de saúde pública em vários países.<sup>6,7</sup> Embora a febre Q seja uma doença de notificação obrigatória pela Organização Mundial para a Saúde Animal, ela permanece pouco relatada e sua vigilância é frequente e severamente negligenciada.<sup>10</sup> Tanto em animais quanto em humanos, no entanto, as infecções por febre Q permanecem pouco compreendidas<sup>11,12</sup> e sua prevalência tem sido subestimada por muitos anos.<sup>12</sup> A doença em humanos ainda não é reconhecida como de notificação compulsória pelo Ministério da Saúde e isso pode levar a subestimar a situação real. Mas o Brasil publicou várias descobertas, incluindo principalmente relatos de casos de febre Q crônica, algumas de febre Q aguda, vários estudos de soroprevalência em populações expostas e alguns estudos baseados em uma abordagem de síndrome respiratória aguda ou febril aguda.<sup>13</sup>

No mundo<sup>14</sup> e no Brasil,<sup>15,16</sup> poucos estudos investigaram a presença de *C. burnetii* em produtos lácteos.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi um estudo randomizado para estimar a prevalência de *C. burnetii* em QMA, identificado por PCR direto e confirmado por sequenciamento de DNA, em importante região produtora do Estado de Minas Gerais.

Assim, estudos sobre a presença de *C. burnetii* em queijos artesanais se tornam altamente relevantes no Brasil, uma vez que este tipo de queijo é produzido principalmente a partir do leite cru, que pode ser uma fonte de transmissão para o ser humano. Os resultados deste estudo são importantes para orientar medidas de monitoramento e controle por parte de órgãos estaduais e federais de saúde animal e de inspeção de alimentos, voltados especificamente para agroindústrias que produzem queijo de leite cru como o QMA e especialmente para os de saúde humana.

## MATERIAL E MÉTODOS

---

Desenho e localização do estudo. Este é um estudo transversal para estimar a prevalência de *Coxiella burnetii* em QMA produzido por agroindústrias da microrregião do Serro, estado de Minas Gerais, Brasil. Os critérios de inclusão foram as agroindústrias registradas no IMA, Instituto Mineiro de Agropecuária. As agroindústrias selecionadas foram distribuídas em 11 cidades pertencentes à região do Serro: Alvorada de Minas, Coluna, Conceição do Mato Dentro, Dom Joaquim, Itambé do Mato Dentro, Matelândia, Paulistas, Rio Vermelho, Sabinópolis, Serra Azul de Minas, Serro.

Planejamento amostral. A amostra da população alvo para estimar o percentual de QMA positivo para *Coxiella burnetii* foi determinado por sorteio aleatório de 53 (42,4%) das 125 agroindústrias registradas no IMA. Como todos os queijos foram fabricados a partir de leite de conjunto de cada propriedade, apenas um queijo foi coletado por agroindústria para representá-la.

Coleta de dados. Cinquenta e três produtores de QMA, representando suas próprias agroindústrias, foram entrevistados utilizando um questionário estruturado. Este foi organizado por conteúdo, com foco nas características socioeconômicas, saúde animal, Boas Práticas Agropecuárias e Boas Práticas de Fabricação para o QMA.

Coleta de amostras de queijo. As amostras de queijo (n = 53) foram coletadas pela equipe de estudo treinada para realizar sua coleta, armazenamento e transporte, entre junho e dezembro de 2014. Em cada agroindústria sorteada foi coletado um queijo com tempo de maturação entre 4 e 8 dias.

As amostras contendo aproximadamente 900 g foram coletadas em embalagens próprias e mantidas em caixas isotérmicas sob refrigeração (<4 °C) com gelo reciclável durante o envio ao laboratório para análise.

Extração de DNA. As amostras de queijo foram fracionadas em amostras menores que 100g, envasadas em sacos estéreis para amostras sólidas e líquidas (INLAB), seladas, identificadas, maceradas e homogeneizadas. A extração de DNA da amostra de queijo foi realizada utilizando o kit comercial para extração de DNA em tecido (QIAamp DNA Blood Mini Kit, Qiagen®) de acordo com as instruções do fabricante.

Amplificação de DNA. Após a extração do DNA este foi utilizado em ensaios de PCR convencional para detectar *C. burnetii*. O DNA de *C. burnetii* foi detectado com iniciadores específicos projetados para amplificar o gene IS1111, localizado em uma região conservada do genoma da bactéria. O conjunto de primers são apresentados na Tabela 1.

A amplificação de DNA foi realizada utilizando Platinum Taq DNA polimerase. O tamanho da amostra foi de 4 µL para PCR1 e 2 µL para PCR2. A reação continha 2,5 µL de tampão PCR 10x, 0,6 µL de primer 10 mM, 0,75-2 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM, 0,25 desoxinucleotídeos (20 mM de cada desoxinucleotídeo trifosfato), 0,1 µL de Platinum Taq DNA polimerase (5U/ µL Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e água livre de nucleases (Promega, Madison, WI, EUA). O sucesso da amplificação foi verificado por migração em gel agarose 1,5% e coloração do gel com solução de GelRed™ (Biotium, Hayward, CA, EUA).

Sequenciamento de DNA. Os produtos amplificados foram purificados utilizando o kit ilustra GFX RCR DNA e Gel Band Purification® (GE Healthcare, Buckinghamshire, Reino Unido) de acordo com as instruções do fabricante. Para a reação de sequenciamento foi utilizado o Kit BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction® v.3.1 e para purificação o kit BigDye® X-Terminator Purification (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), de acordo com as recomendações do fabricante. As análises foram realizadas com um ABI Prism 3730XL, 96 capilares (Applied Biosystems) e as sequências de nucleotídeos

foram analisadas utilizando o software MEGA 6. Uma sequência consenso foi estabelecida pelo mesmo software.

Análises epidemiológicas: A prevalência de QMA positivo para o DNA de *C. burnetii* foi determinada com intervalo de confiança de 95%.

Padrões éticos. Os autores afirmam que todos os procedimentos que contribuem para este trabalho estão em conformidade com os padrões éticos dos comitês nacionais de instituições relevantes sobre experimentação humana e com a Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 2008. Além disso, este estudo foi inserido na Plataforma Brasil e aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estácio de Sá, UNESA, RJ (protocolo 466748/2013).

## RESULTADOS

### Resultados descritivos

As agroindústrias participantes tinham entre 6 e 91 vacas em lactação (mediana 28,5 vacas em lactação), produzindo diariamente entre 50 e 1.597 litros de leite (mediana 245 litros) e 7 e 198 queijos de aproximadamente um quilograma (mediana 33,5 queijos).

Nenhum dos proprietários estudados atendiam plenamente ao plano de controle da mastite, conforme preconizado pelo National Mastitis Council (Hillerton e Booth 2018).

A ordenha é mecanicamente canalizada em 40,9% e o rebanho é fechado, ou seja, não compra animais em apenas 36,4% das agroindústrias estudadas. Dos produtores que compram animais 92,85% não exigem nenhum certificado sanitário do rebanho dos vendedores. Em 70,4% dos rebanhos estudados há contato dos animais com os de vizinhos, seja por cerca de arame ou por utilizar o mesmo touro.

Para a produção de queijos, somente 21 produtores (47,7%) utilizam o soro fermento endógeno chamada “pingo”. A casca do queijo ralado como uma cultura

**Tabela 1.** Primers utilizados para detecção de *Coxiella burnetii* em amostras de queijo Minas artesanal

Primers	Sequências (5' - 3')	Tamanho do fragmento	Temperatura de anelamento
*QBT - 1	TATGTATCCACCGTAGCCAGC	687 pb	60 °C
*QBT - 2	CCCAACAACACCTCCTTATTC		
**QBT N3 <sup>+1</sup>	AAGCGTGTGGAGGAGCGAACC	440 pb	66 °C
* * QBT N4 <sup>-1</sup>	CTCGTAATCACCAATCGCTTCGTC		

<sup>1</sup> *Nested* PCR/ \*Hoover et al. 17/ \*\*Sequências de nucleotídeos desenhadas no Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses, ainda em fase de publicação

inicial, chamada “rala”, mesmo proibida pela legislação nacional, está sendo usada em diferentes intensidades por 68,2% das agroindústrias. O tempo médio de maturação que os produtores esperam para vender QMA para consumo variou de apenas três a oito dias.

### Ocorrência de *C. burnetii*

A PCR e o sequenciamento de DNA revelaram cinco (9,43%, IC95% 3,1 a 20,7%) QMA positivos para *C. burnetii* na região do Serro, estado de Minas Gerais, Brasil.

A taxa de QMA positiva não apresentou diferenças estatísticas espaciais entre duas faixas concêntricas, de 30,5 km de largura cada, a partir centro do principal município da região, também chamado de Serro.

## DISCUSSÃO

A prevalência de *C. burnetii* no QMA da região de Serro foi estimada em 9,43% (IC95% 3,1 a 20,7%). Essa foi a primeira vez que esse patógeno, considerado padrão histórico na definição do binômio tempo/temperatura de pasteurização, tem sido pesquisado em queijos de leite cru no Brasil.

No mundo, também existem poucos estudos que analisaram a presença desse patógeno em queijo de leite cru.<sup>14</sup> Galieiro et al. encontraram 17,24% de queijo positivo para *C. burnetii* na Itália,<sup>19</sup> enquanto Capuano et al. também na Itália encontraram uma prevalência geral de 21,3% de queijo de leite cru positivos, com uma variação entre espécies: 39%, 26% e 6,9% de positividade entre queijos de vaca, pequenos ruminantes e búfala, respectivamente.<sup>20</sup> Na França, Eldin et al. encontraram positividade de 57,14% entre o queijo de leite cru analisado.<sup>21</sup>

A inalação de aerossóis contaminados é a principal via de transmissão de *C. burnetii* para humanos.<sup>20</sup> O papel dos produtos lácteos não pasteurizados na transmissão de *C. burnetii* a humanos ainda é controverso e a relação de causa-efeito entre o consumo de produtos lácteos não pasteurizados e o desenvolvimento de doenças clínicas ainda não foi totalmente estabelecido.<sup>22</sup> Embora existam evidências epidemiológicas de casos de febre Q, em que o consumo de leite cru e derivados foi a causa mais provável.<sup>23-26</sup> Um importante surto humano ocorreu em Michigan (EUA) em 2011 e envolveu cinco consumidores regulares de leite cru.<sup>26</sup> Mas, poucos dados estão disponíveis para estimativas robustas de análise de risco da infecção humana relacionada ao consumo de leite cru e queijo de leite cru.<sup>14, 20, 21</sup> No entanto, é plausível que a

ingestão de queijo de leite cru também seja uma causa, principalmente devido à alta resistência de *C. burnetii*.<sup>7,20</sup>

Em um ensaio experimental em que o leite de vaca e ovelha foi artificialmente contaminado com *C. burnetii* antes da produção de queijo, este agente patogênico sobreviveu em queijo produzido a partir de leite bovino contaminado durante um período de 17 dias, enquanto em queijo produzido com leite de ovelha, *C. burnetii* não permaneceu viável no mesmo período.<sup>27</sup> Em outro estudo semelhante, *C. burnetii* em queijo cottage produzido a partir de leite de vaca naturalmente contaminado permaneceu viável até 42 dias e deixou de ser detectável aos 49 dias de maturação.<sup>28</sup>

Por outro lado, um estudo de Eldin et al. não encontrou células viáveis de *C. burnetii* em produtos lácteos PCR-positivos na França e concluiu que os animais da fazenda estão altamente infectados na França, mas o consumo de queijo e iogurte não parece representar um risco à saúde pública para a transmissão da febre Q naquele país.<sup>21</sup> No entanto, a realidade da produção e comercialização de queijos artesanais franceses não é comparável à do Brasil, uma vez que os queijos são maturados por um longo período e a maioria dos queijos brasileiros é consumida com pouca ou nenhuma maturação. Segundo Gale et al., é possível que a combinação de tempo de maturação e formas de processamento (pH mais baixo e maior tempo de maturação) na fabricação de queijos não seja propícia à sobrevivência de *C. burnetii*.<sup>7</sup>

Embora a legislação local determine 17 dias de maturação,<sup>29</sup> de acordo com o auto-relato dos produtores deste estudo os queijos estavam sendo comercializados entre apenas três e oito dias. Desta forma, estes queijos podem constituir uma fonte de exposição humana à *C. burnetii* viável.

A legislação também determina que cada agroindústria deve produzir QMA a partir de leite de conjunto de uma única fazenda. Assim, se a bactéria foi encontrada no produto final deste estudo, as chances de que as respectivas propriedades sejam positivas para *C. burnetii* são altas. Dentro de propriedades positivas, o patógeno pode estar entrando na cadeia do leite diretamente de bovinos positivos ou indiretamente por meio de contaminação ambiental. Saber quais propriedades são positivas também pode ajudar em medidas de controle, como determinar as fontes de contaminação e mitigá-las. A transmissão deste patógeno através de aerossóis contaminados para ordenhadores, manipuladores de animais, veterinários, fabricantes de queijo e também outras pessoas que vivem na vizinhança da propriedade positiva é de importância epidemiológica primária.

Portanto, há demanda por medidas educativas, de prevenção e controle direcionadas aos espectadores

específicos do presente estudo intrinsecamente envolvidos com propriedades positivas. Além disso, se os animais com febre Q estiverem confirmados, eles devem ser notificados tanto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento quanto à Organização Mundial de Saúde Animal.

Como regra geral, a febre Q é uma zoonose, com animais domésticos e selvagens sendo os reservatórios naturais do patógeno.<sup>5</sup> No entanto, as medidas de controle contra a infecção dos reservatórios animais (animais domésticos) são difíceis de aplicar porque a febre Q não causa perdas econômicas aparentes e os criadores podem ser reativos para fazer intervenções para a profilaxia desta doença. Quando praticável, a vacinação, separação de fêmeas pré-parto e destruição de placentas e envoltórios fetais por incineração ou enterramento podem ser recomendadas; tais medidas são apropriadas para propriedades que produzem queijo de leite cru, como o QMA.

Vacas e cabras eliminaram *C. burnetii* quase exclusivamente no leite e sua presença no leite e mastite subclínica em bovinos leiteiros tem sido associadas. As células-alvo desse microrganismo são macrófagos e monócitos e, quando a mastite ocorre, também aumenta o número de macrófagos infectados por *C. burnetii*, que estão no leite. Portanto, em zonas enzoóticas, é aconselhável ferver ou pasteurizar o leite. Porém, no caso de queijos como esses, que exigem em sua formulação leite cru, para limitar a exposição humana a patógenos veiculados por alimentos, várias medidas de controle podem ser tomadas do campo à mesa, segundo Verraes et al., que são apresentadas a seguir. Ao nível da exploração, os microrganismos patogênicos que contaminam o leite cru podem provir do animal produtor de leite ou do ambiente. É de suma importância manter a pressão de infecção no estábulo o mais baixo possível por meio de um bom gerenciamento de higiene e conforto ideal das vacas para obter uma boa saúde do úbere e uma ótima qualidade do leite. No entanto, a contaminação do leite durante a ordenha não pode ser completamente evitada, nem mesmo com limpeza e desinfecção elaboradas. Entre a ordenha e o processamento de produtos lácteos, o tempo deve ser restrito e as temperaturas mantidas tão baixas quanto possível para evitar que os patógenos possivelmente presentes cresçam. Durante o processamento do leite, uma fermentação rápida com culturas iniciais eficientes deve ser aplicada para restringir o crescimento dos patógenos.<sup>30</sup>

No entanto, nenhuma das propriedades do estudo adota um programa de controle e monitoramento da mastite consolidado internacionalmente<sup>18</sup> e

aproximadamente metade dos produtores não usam soro fermento endógeno, chamado “pingo”, que é uma cultura láctica natural usada para a fabricação de QMA e a maioria deles o substitui por um iniciador proibido pela legislação local: “rala” ou casca de queijo ralado. Além disso, a maturação do produto tem sido muito curta em vista da alta resistência deste patógeno.

*C. burnetii* pode sobreviver por muito tempo no solo e na poeira, o que pode liberar aerossóis contaminados, sendo importante na disseminação de *C. burnetii*. Esses aerossóis podem atingir longas distâncias, principalmente sob a ação de correntes de vento.<sup>5</sup> No entanto, na produção de queijo de leite cru brasileiro, é muito comum e permitido pela legislação que o local de produção esteja próximo ao estábulo e ao local de ordenha, o que poderia aumentar a possibilidade de entrada de aerossóis contaminados em toda a cadeia de produção do queijo.

A associação entre a introdução de novos animais e a presença de *C. burnetii* no rebanho foi demonstrada em outros estudos.<sup>5</sup> Mas, menos da metade dos rebanhos estudados não está completamente fechada, e isso permite a entrada de animais positivos para este e outros patógenos zoonóticos. Assim, a exigência de atestados de saúde para a compra de animais deve ser outro requisito para os produtores de queijo de leite cru, como o QMA.

No Brasil, a notificação de casos confirmados é obrigatória para animais, embora sejam subnotificados, e ainda não é obrigatória para humanos. Além disso, ainda não há legislação nacional específica ou controle para este patógeno em derivados de leite cru. Como essa alta prevalência de *C. burnetii* em queijos analisados pode implicar riscos potenciais à saúde pública, medidas de controle mais rigorosas direcionadas para a saúde animal, leite cru e agroindústrias produtoras de leite cru são necessárias para garantir a segurança do alimento.

## CONCLUSÃO

---

A prevalência de *C. burnetii* em propriedades produtoras de queijo Minas Artesanal da Microrregião do Serro foi de 9,43% (5/53), o que pode resultar em risco potencial para a saúde pública. Porém ainda são necessários mais estudos para saber o genótipo de *C. burnetii* presente na região e se esse é infeccioso para o ser humano. Além disso, são necessários estudos para saber a viabilidade dessa bactéria nesses queijos e o impacto da mastite por *C. burnetii* em propriedades produtoras artesanais.

## AGRADECIMENTO

---

Este trabalho contou com o apoio do Conselho Nacional de Pesquisa do Brasil (CNPq) (parecer número 443235 / 2014-7), da Agência de Pesquisa e Desenvolvimento do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT) (outorga número 085/2015). Agência Estadual de Pesquisa e Desenvolvimento (FAPEMIG) (números de outorga CVZ-APQ-02746-14 e CVZ-PPM-00526-16) e Embrapa (número de concessão .02.13.10.007.00.00)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Ribeiro JA. A evolução da tecnologia queijeira. *Rev Inst Latic Cândido Tostes*. 1958; 13:27-30.
2. Reis AR. Caracterização físico-química e identificação dos elementos metálicos dos queijos Minas do Serro e Minas da Serra da Canastra [dissertação]. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: Universidade Federal de Minas Gerais. 1998; 96 pp.
3. Pires MCS. Memória e Arte do Queijo do Serro: o saber sobre a mesa. Belo Horizonte: Editora UFMG. 2013; 200 pp.
4. EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Queijo Minas Artesanal: tradição e qualidade que revelam Minas. *Revista da EMATER – MG*. 2004; XXII:8-9.
5. Marrie TJ, Raoult D. Q fever a review and issues for the next century. *Int J Antimicrob Agents*. 1997; 8:145-61.
6. Marrie TJ. Epidemiology of Q fever. In: Marrie TJ (ed.). *Q fever, vol 1. The disease*. Boca Raton (FL): CRC Press. 1990; 49-70.
7. Gale P, Kelly L, Mearns R, Duggan J, Snary EL. Q fever through consumption of unpasteurised milk and milk products – a risk profile and exposure assessment. *J Appl Microbiol*. 2015; 118:1083-95.
8. CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Q fever. Disponível em: <https://www.cdc.gov/qfever/>. Acessado em: 05/06/2017.
9. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Vet Res*. 2005; 36:327-49.
10. Porter SR, Czaplicki G, Mainil J, Guattéo R, Saegerman C. Q Fever: current state of knowledge and perspectives of research of a neglected zoonosis. *Int J Microbiol*. 2011; 2011:248418.
11. Rousset E, Duquesne V, Russo P, Thiery R. Fievre Q: problematiques et risques sanitaires. *Bull Acad Vet Fr*. 2007; 160:107-14.
12. Pape M, Mandraveli K, Arvanitidou-Vagiona M, Nikolaidis P, Alexiou-Daniel S. Q fever in northern Greece: epidemiological and clinical data from 58 acute and chronic cases. *Clin Microbiol Infect*. 2009; 15(sup. 2):150-1.
13. Epelboin L, Nacher M, Mahamat A, et al. Q Fever in French Guiana: tip of the Iceberg or epidemiological exception? *PLoS Negl Trop Dis*. 2016; 10:e0004598.
14. Hirai A, Nakama A, Chiba T, Kai A. Development of a method for detecting *Coxiella burnetii* in cheese samples. *J Vet Med Sci*. 2012; 74:175-80.
15. Mares-Guia MAM, et al. Molecular identification of the agent of Q fever – *Coxiella burnetii* – in domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014; 47:231-4.
16. Oliveira JMB, Rozental T, Lemos ER, Forneas D, Ortega-Mora LM, Porto WJN, Oliveira AAF, Mota RA. *Coxiella burnetii* in dairy goats with a history of reproductive disorders in Brazil. *Acta Trop*. 2018; 183:19-22.
17. Hoover TA, Vodkin MH, Williams JCA. *Coxiella burnetii* repeated DNA element resembling a bacterial insertion sequence. *J Bacteriol*. 1992; 174:5540-8.
18. Hillerton JE, Booth JM. The five-point mastitis control plan – a revisory tutorial! *NMC Annual Meeting Proceedings*; 2018.
19. Galieiro A, Frantini F, Domenico MD, Curini V, Baronti I, Turchi B, et al. Occurrence of *Coxiella burnetii* in goat and ewe unpasteurized cheeses: screening and genotyping. *Int J Food Microbiol*. 2016; 237:47-54.
20. Capuano F, Mancusi A, Casalnuovo F, Perugini A, Proroga Y, Guarino A, et al. Real-time PCR-based detection of *Coxiella burnetii* in cheeses. *Eur Food Res Technol*. 2012; 235:1181-6.

21. Eldin C, Angelakis E, Renvoisé A, Raoult D. *Coxiella burnetii* DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. *Am J Trop Med Hyg.* 2013; 88:765-9.
22. European Food Safety Authority. Scientific opinion on Q fever. *EFSA J.* 2010; 8(5).
23. Fishbein DB, Raoult D. A cluster of *Coxiella burnetii* infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. *Am J Trop Med Hyg.* 1992; 47:35-40.
24. Hatchette TF, Hudson RC, Schlech WF, Campbell NA, Hatchette JE, Ratnam S, et al. Goat-associated Q fever: a new disease in Newfoundland. *Emerg Infect Dis.* 2001; 7:413-9.
25. Maltezou HC, Constantopoulou I, Kallergi C, Vlahou V, Georgakopoulos D, Kafetzis DA, et al. Q fever in children in Greece. *Am J Trop Med Hyg.* 2004; 70:540-4.
26. Signs KA, Stobierski MG, Gandhi TN. Q fever cluster among raw milk drinkers in Michigan, 2011. *Clin Infect Dis.* 2012; 55:1387-9.
27. Babudieri B, Moscovici C. Behaviour of *Coxiella burnetii* with physical and chemical treatment. *Rend Inst Sup Di Sanità J.* 1950; 13:739-48.
28. Šipka M. Survival of *Coxiella burnetii* in cheese. *Vet Glas.* 1958; 12:9-12.
29. BRASIL. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Minas Gerais). Instituto Mineiro de Agropecuária. Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do queijo minas artesanal. Belo Horizonte; 2013.
30. Verraes C, et al. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *Int Dairy J.* 2015; 50:32-44.