

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ESTIMATIVA DE CASOS DE SALMONELOSE HUMANA ATRIBUÍDA ÀS  
FONTES DE ALIMENTO DE ORIGEM ANIMAL NO ESTADO DO RIO GRANDE  
DO SUL**

**WALDEMIR SANTIAGO NETO**

**PORTO ALEGRE  
2019**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE VETERINÁRIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**ESTIMATIVA DE CASOS DE SALMONELOSE HUMANA ATRIBUÍDA ÀS**  
**FONTES DE ALIMENTO DE ORIGEM ANIMAL NO ESTADO DO RIO GRANDE**  
**DO SUL**

**Autor: Waldemir Santiago Neto\***

**Tese apresentada como requisito parcial para  
obtenção de grau de Doutor em Ciências  
Veterinárias, Especialidade Epidemiologia,  
Saneamento e Profilaxia.**

**Orientador: Dr. Luís Gustavo Corbellini**

**Co-orientadora: Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bielefeldt Leotti**

**PORTO ALEGRE**

**2019**

---

\*Médico Veterinário Msc

WALDEMIR SANTIAGO NETO

**ESTIMATIVA DE CASOS DE SALMONELOSE HUMANA ATRIBUÍDA ÀS  
FONTES DE ALIMENTO DE ORIGEM ANIMAL NO ESTADO DO RIO GRANDE  
DO SUL**

Aprovada em 31 de Maio de 2019

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Luís Gustavo Corbellini  
Orientador

---

Dr. Mauro Riegert Borba (UFRGS)  
Membro da Comissão

---

Dr. Rodrigo Citton Padilha dos Reis (UFRGS)  
Membro da Comissão

---

Dr. João Paulo Amaral Haddad (UFMG)  
Membro da Comissão

**O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001**

CIP - Catalogação na Publicação

Neto, Waldemir Santiago

Estimativa de casos de salmonelose humana atribuída às fontes de alimento de origem animal no estado do Rio Grande do Sul / Waldemir Santiago Neto. -- 2020. 132 f.

Orientador: Luís Gustavo Corbellini.

Coorientadora: Vanessa Bielefeldt Leotti.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2020.

1. Salmonella não-tifoidal. 2. Zoonose alimentar. 3. Atribuição de fontes. 4. Vigilância. 5. Avaliação de risco. I. Corbellini, Luís Gustavo, orient. II. Leotti, Vanessa Bielefeldt, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço aos colegas do Laboratório de Epidemiologia Veterinária, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da UFRGS, e do grupo de Epidemiologia e Modelagem de Risco da Universidade Técnica da Dinamarca, pela colaboração no desenvolvimento do trabalho. Agradeço a meus orientadores Dr. Luis Gustavo Corbellini, Dr.<sup>a</sup> Vanessa Bielefeldt Leotti, Dr.<sup>a</sup> Tine Hald e Dr.<sup>a</sup> Sara Monteiro Pires pelo incentivo e correções ao longo deste trabalho. Agradeço à minha família pelo apoio e oportunidade de ter estudado, em especial agradeço à minha mãe Isabel Cristina Tessaro, ao meu irmão Philip Öysten Tessaro Santiago e ao meu pai Waldemir Santiago Júnior.

## RESUMO

*Salmonella enterica* é considerada uma das principais causas de gastroenterites no Brasil, e a maioria de seus subtipos é encontrada em animais de sangue quente. A fim de priorizar intervenções em sanidade alimentar, a elucidação das contribuições de diferentes fontes à salmonelose humana se faz importante. O objetivo desse trabalho foi atribuir os surtos e os casos esporádicos de salmonelose em humanos a fontes de alimentos por meio de inferência bayesiana. Surtos de salmonelose em humanos nas sete mesorregiões do Rio Grande do Sul (RS) de 2005 a 2015 foram analisados considerando diferentes categorias de ingredientes mutuamente excludentes (carne bovina, carne suína e etc). Para o cálculo da proporção de surtos atribuídos a cada fonte, os surtos causados por um ingrediente (alimentos simples, como a carne de frango) foram atribuídos à respectiva categoria de ingrediente, e surtos causados por alimentos mistos (isto é, mais de uma categoria, como a lasanha) foram particionados a cada categoria proporcionalmente à probabilidade estimada a priori. Já a distribuição de ocorrência de casos causados por distintos sorovares de *Salmonella* não tifoides em humanos no estado foi analisada considerando a ocorrência destes sorovares comuns em frangos, perus, suínos e poedeiras na região sul do país. Dados de produção entraram como parâmetro de disponibilidade de alimentos de origem animal para consumo. O número esperado de casos de salmonelose humana devido a um dado sorovar numa dada fonte depende da prevalência de ocorrência do sorovar na fonte, assim como o consumo da fonte na população e parâmetros intrínsecos às fontes (por exemplo, modos de preparo) e aos sorovares (por exemplo, patogenicidade). As fontes mais importantes de salmonelose humana no RS no período compreendido entre 2005 e 2015 foram poedeiras (ovos), com 39,4% (159 casos, Intervalo de Credibilidade de 95% (ICr95% 43-247) dos casos, seguido por 34,5% atribuído a suínos criados em Santa Catarina (139 casos, ICr95% 60-187). Os sorovares mais importantes na casuística de salmonelose humana por consumo de alimentos de origem animal foram *S. Enteritidis*, responsável por 43,4% (175 casos, ICr95% 150-202) e *S. Typhimurium*, contribuindo com 39,9% (161 casos, ICr95% 137-187). Este trabalho possibilita destacar diferenças na epidemiologia de *Salmonella*, foco de vigilância em humanos e animais, no estado a partir de análise secundária de dados existentes.

Palavras-chave: *Salmonella*. Zoonoses transmitidas por alimentos. Modelagem matemática. Atribuição de fontes. Surtos alimentares.

## ABSTRACT

*Salmonella enterica* is considered a major cause of gastroenteritis in Brazil, and most of its subtypes are found in warm-blooded animals. In order to prioritize interventions in food safety, the elucidation of contributions from different sources to human salmonellosis becomes important. The objective of this work was to attribute outbreaks and sporadic cases of salmonellosis in humans to food sources by means of Bayesian inference. Outbreaks of salmonellosis in humans in the seven mesoregions of Rio Grande do Sul (RS) from 2005 to 2015 were analyzed considering different categories of mutually exclusive ingredients (beef, pork and etc.). For the purpose of calculating the proportion of outbreaks attributed to each source, outbreaks caused by an ingredient (single feeding stuffs such as chicken meat) have been assigned to the respective ingredient category, and outbreaks caused by mixed feedingstuffs (i.e. more than one category, such as lasagna, for example) were partitioned into each category in proportion to the probability estimated a priori. The distribution of occurrence of cases caused by different serotypes of non-typhoid *Salmonella* in humans in the state was analyzed considering the occurrence of these common serovars in chickens, turkeys, swine and laying hens in the southern region of the country. Production data entered as a parameter of availability of food of animal origin for consumption. The expected number of human salmonellosis cases due to a given serovar in a given source depends on the prevalence of occurrence of serovar at source, as well as source consumption in the population and parameters intrinsic to sources (e.g. modes of preparation) and serovars (e.g., pathogenicity). The most important sources of human salmonellosis in the period between 2005 and 2015 were laying hens (eggs), with 39.4% (159 cases, 95% Credibility Interval (CrI95% 43-247) of the cases, followed by 34.5% attributed to pigs raised in Santa Catarina (139 cases, CrI95% 60-187). The most important serovars in the human salmonellosis case were *S. Enteritidis*, responsible for 43.4% (175 cases, CrI95% 150-202) and *S. Typhimurium*, accounting for 39.9% (161 cases, 95% CrI 137-187). This work makes it possible to highlight differences in the epidemiology of *Salmonella*, a focus of surveillance in humans and animals, in the state from secondary analysis of existing data.

**Keywords:** *Salmonella*. Foodborne zoonoses. Mathematical modeling. Source attribution. Food outbreaks.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> –	Custos estimados em bilhões de dólares em 2010 baseado em estimativas de incidência de 14 patógenos importantes nos EUA.....	8
<b>Figura 2</b> –	Principais sorovares de <i>Salmonella</i> identificados na bromatologia de surtos alimentares no Rio Grande do Sul no período de 1999 a outubro 2012.....	15
<b>Figura 3</b> –	Principais rotas de transmissão de patógenos entéricos.....	18
<b>Figura 4</b> –	Pirâmide de subnotificação mostrando as etapas em que casos presentes na população são perdidos pelo sistema de vigilância.....	35
<b>Figura 5</b> –	Principais sorovares de <i>Salmonella</i> identificados em amostras clínicas provenientes de surtos no Rio Grande do Sul no período de 2007 a outubro de 2012.....	49
<b>Figura 6</b> –	Principais sorovares identificados em amostras clínicas provenientes de casos esporádicos no Rio Grande do Sul no período de 2011 a 2015.....	50
<b>Figura 7</b> –	Gráfico acíclico dirigido do modelo Bayesiano para os sorovares de <i>Salmonella</i> (adaptado de DAVID <i>et al.</i> , 2013a).....	56
<b>Figura 8</b> –	Esquema hierárquico para categorização de itens alimentares de animais terrestres.....	60
<b>Figura 9</b> –	Gráfico dos valores observados e esperados do número de casos notificados por sorovar de <i>Salmonella</i> .....	65
<b>Figura 10</b> –	Prevalência <i>a priori</i> obtida a partir de alimentos simples ( $P_j$ ) para <i>Salmonella</i> spp. (média e intervalo de credibilidade de 95%), Rio Grande do Sul, Brasil.....	67
<b>Figura 11</b> –	Proporção de surtos de salmonelose atribuída a alimentos no Rio Grande do Sul, nos triênios 2006-2008, e 2009-2011, e quadriênio 2012-2015.....	67
<b>Figura 12</b> –	Proporção de surtos de salmonelose atribuída a alimentos, nas mesorregiões do Rio Grande do Sul.....	68



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Comparação da estatística das abordagens Bayesiana e clássica.....	40
<b>Tabela 2</b> – Ponto de atribuição, locais, desfechos, e fontes incluídas de abordagens de atribuição de fontes implementadas para a atribuição de salmonelose humana.....	48
<b>Tabela 3</b> – Proporção relativa de sorovares de <i>Salmonella</i> spp. encontrada em granjas de aves de corte no Estados de Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.....	51
<b>Tabela 4</b> – Estudo exploratório do MAPA com a proporção relativa de sorovares de <i>Salmonella</i> spp. encontrada em granjas de suínos no Rio Grande do Sul.....	52
<b>Tabela 5</b> – Sumário de estudos utilizados para estimar a proporção de sorovares de <i>Salmonella</i> em suínos criados em Santa Catarina e região.....	53
<b>Tabela 6</b> – Descrição e definição dos parâmetros utilizados para estimar o número de casos de salmonelose por fonte animal.....	55
<b>Tabela 7</b> – Parâmetros usados para estimar o número de surtos reportados de <i>Salmonella</i> spp. atribuídos a fontes alimentares (adaptado de Pires <i>et al.</i> , 2012).....	62
<b>Tabela 8</b> – Estimativas dos números de casos esperados para as principais combinações de sorovares e fontes de animais de produção de diferentes estados causadores de salmonelose humana no Rio Grande do Sul entre 2005 e 2015.....	64
<b>Tabela 9</b> – Valores estimados para os fatores fonte e sorovar-dependentes: $\{a_j\}$ e $\{q_i\}$ ..	65

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Salmonelose não tifoidal.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Saúde Unificada e análise secundária de dados existentes.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Avaliação de risco e de atribuição de fontes de doenças transmitidas por alimentos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.4</b>	<b>Métodos e modelos de atribuição de fontes.....</b>	<b>28</b>
2.4.1	Abordagens epidemiológicas.....	31
2.4.1.1	Investigação de surto.....	33
2.4.2	A abordagem de subtipificação microbiana.....	35
2.4.2.1	Inferência Bayesiana.....	39
2.4.2.2	Inferência Bayesiana usando simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov.....	42
2.4.2.3	O modelo de atribuição dinamarquês.....	46
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>48</b>
<b>3.1</b>	<b>Vigilância de salmonelose em humanos, alimentos e animais no Rio Grande do Sul.....</b>	<b>48</b>
3.1.1	Localização dos surtos.....	49
3.1.2	Vigilância hospitalar.....	50
3.1.3	Monitoramento em reservatórios animais.....	50
<b>3.2</b>	<b>Modelos Bayesianos de atribuição de salmonelose humana a fontes alimentares no Rio Grande do Sul.....</b>	<b>54</b>
3.2.1	O modelo por sorotipificação no Rio Grande do Sul.....	54
3.2.2	Atribuição de salmonelose humana a fontes alimentares usando dados de investigações de surtos.....	58
3.2.2.1	Dados incluídos e método.....	58
3.2.2.2	Categorização dos alimentos.....	59
3.2.2.3	Visão geral do modelo.....	61
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
<b>4.1</b>	<b>Atribuição de salmonelose humana por sorotipificação microbiana.....</b>	<b>63</b>
<b>4.2</b>	<b>Atribuição de fontes de salmonelose humana por análise de dados de</b>	

	<b>investigação de surtos.....</b>	<b>66</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
<b>5.1</b>	<b>O modelo de sorotipificação microbiana no RS.....</b>	<b>69</b>
<b>5.2</b>	<b>O modelo de investigação de surtos.....</b>	<b>71</b>
<b>5.3</b>	<b>Comparação das abordagens e resultados.....</b>	<b>74</b>
5.3.1	Características dos dados.....	74
5.3.2	Características dos métodos.....	75
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>81</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>83</b>
	<b>APÊNDICES.....</b>	<b>96</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Doenças transmitidas por alimentos (DTA) são importantes mundialmente, resultando em consideráveis índices de morbidade e mortalidade. O comércio internacional crescente, a migração e as viagens proporcionam uma aceleração no espalhamento de patógenos perigosos e contaminantes de alimentos, fazendo aumentar a vulnerabilidade de maneira universal (TAUXE et al., 2010). Em 1991, a epidemia de cólera na América Latina, a qual se imagina ter começado a partir de água e frutos do mar contaminados no Peru, se disseminou rapidamente pelo continente resultando em aproximadamente 400.000 casos e mais de 4.000 mortes reportados em diversos países (PAHO, 1992). Nos Estados Unidos, se estima que doenças transmitidas por alimentos causadas pelos 31 principais patógenos conhecidos resultem em aproximadamente 10 milhões de casos, mais de 56.000 hospitalizações e mais de 1.000 óbitos (SCALLAN et al., 2011). Neste mesmo país, o custo em dólares de *Salmonella* não-tifoidal foi o maior dentre os custos de outros 13 patógenos importantes (Figura 1) (HOFFMANN; BATZ; MORRIS, 2012).

Segundo o relatório “Estimativas da carga global de doenças transmitidas por alimentos”, publicado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2015, 600 milhões, ou quase uma em cada 10 pessoas no mundo, adoeceram em 2010 depois de consumir alimentos contaminados por 31 agentes, incluindo bactérias, vírus, parasitas, toxinas e produtos químicos. Destas, 42.0000 pessoas morreram, incluindo 12.5000 crianças menores de cinco anos (WHO, 2015). Uma preocupação especial está relacionada ao consumo de alimentos perigosos por pessoas mais suscetíveis, como crianças pequenas, idosos, gestantes e pessoas com sistema imunológico enfraquecido por doença ou tratamento médico (FDA, 2019).

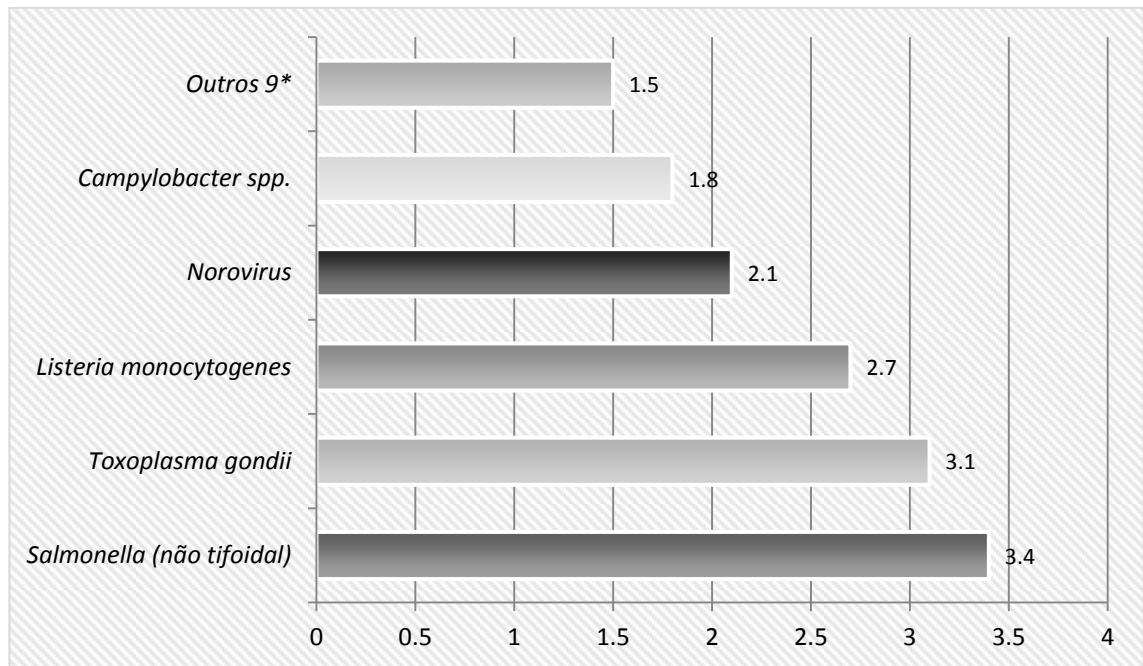
Sob uma perspectiva global um pouco mais recente, tem se estimado que patógenos entéricos já sejam responsáveis por dois bilhões de casos de DTA e mais de um milhão de mortes (KIRK et al., 2015). Além do número de casos e mortes, a métrica de expectativa de vida ajustada por incapacidade (DALYs, do inglês *Disability Adjusted Life Years*) reflete casos em que o desfecho da infecção é a seqüela (por exemplo, artrite reativa nos casos de salmonelose) e permite comparações entre diferentes doenças (SASSI, 2006). Infecções diarreicas e invasivas por *Salmonella enterica* não-tifoidal (NTS, do inglês *nontyphoidal Salmonella*) são a terceira principal causa de doenças bacterianas transmitidas por alimentos globalmente e resultam na maior carga de DALYs (mais de quatro milhões) (KIRK et al., 2015), sendo

responsáveis por mais de 93 milhões de casos e 155 mil mortes (MAJOWICZ et al., 2010).

A iniciativa de estimar a carga global de doenças transmitidas por alimentos incluiu onze agentes de doenças diarreicas, sete agentes de doenças infecciosas invasivas, dez helmintos e três produtos químicos. As causas mais frequentes relatadas para doenças transmitidas por alimentos foram agentes causadores de doenças diarreicas, particularmente norovírus e *Campylobacter* spp. O principal agente causador de morte foi *Salmonella enterica* não tifóide, seguida da *Salmonella* Typhi, *Taenia solium* (tênia), do vírus da hepatite A e da aflatoxina. Os principais riscos alimentares foram *S. enterica* não tifoide, *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC, do inglês, *enteropathogenic E. coli*), *S. Typhi* e *T. solium* (WHO, 2015).

Metade da carga global de DTA é causada por doenças diarreicas, afetando 550 milhões de pessoas e causando 23.000 mortes por ano, principalmente em crianças, com 220 milhões de pessoas adoecendo e 96.000 morrendo a cada ano. Comer carne crua ou mal cozida, ovos, produtos frescos e produtos lácteos contaminados são muitas vezes a causa da diarreia (WHO, 2015). De 2007 a 2016, um total de 6.848 surtos de doenças transmitidas por alimentos foram notificados no Brasil ao Sistema Nacional de Informações sobre Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde (dados disponíveis até dezembro de 2016). Durante esse período, 121.283 adoeceram e 111 morreram entre as 610.465 pessoas expostas aos riscos (CAMINO FELTES; ARISSETO-BRAGOTTO; BLOCK, 2017).

**Figura 1** – Custos estimados em bilhões de dólares em 2010 baseados em estimativas de incidência de 14 patógenos importantes nos EUA



Os outros 9 patógenos estão listados a seguir por ordem decrescente de custo (do maior ao menor): *Clostridium perfringens*, *Vibrio vulnificus*, *E. coli* O157:H7, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella* spp., outros *Vibrio* spp., *Cryptosporidium parvum*, *E. coli* produtora de Shiga-toxina (STEC) não-O157, *Cyclospora cayetanensis*.

Fonte: (HOFFMANN; BATZ; MORRIS, 2012)

Bactérias do gênero *Salmonella* são usualmente móveis e não fermentam a lactose (com raras exceções), característica esta que as distingue de enterobactérias como *Escherichia coli*. O gênero *Salmonella* consiste em apenas duas espécies, *Salmonella bongori* e *Salmonella enterica*, a qual por sua vez se divide em seis subespécies (*S. enterica enterica*, *S. enterica salamae*, *S. enterica arizonae*, *S. enterica diarizonae*, *S. enterica houtenae* e *S. enterica indica*) (HEYNDRICKX et al., 2005). *S. enterica enterica* e *S. enterica salamae* são encontrados com frequência em animais de sangue quente, ao passo que as outras subespécies se distribuem mais em animais de sangue frio e no ambiente (GRIMONT; WEILL, 2007). As subespécies são categorizadas posteriormente em sorotipos a fim de dar-lhes uma designação final tal como *S. enterica* subespécie *enterica* sorotipo Enteritidis.

Embora outras fontes sejam reconhecidas (BAKER et al., 2007; O'REILLY et al., 2007), a transmissão de *Salmonella* aos humanos ocorre principalmente através do consumo e manipulação de alimentos contaminados (ACHA; SZYFRES, 2001), comumente carnes de suíno, gado e frango, produtos lácteos e ovos. Há evidências

científicas de transmissão de cepas de reservatórios animais através da cadeia de alimentos à população humana (NEWELL et al., 2010). O termo ‘fonte’ tem seu significado de acordo com a etapa do caminho de transmissão, como por exemplo, na origem, os animais reservatórios e/ou hospedeiros amplificadores (frangos, suínos, etc), no processamento, por meio de veículos (transmissor inanimado) ou exposições cruzadas, até o destino final, incluindo diferentes alimentos específicos de origem animal (PIRES, 2009). Para um melhor entendimento das causas de salmonelose humana, a proporção de casos reportados de salmonelose atribuíveis aos principais animais de produção de alimentos tem sido estimada em alguns países nas últimas décadas (AHLSTROM et al., 2017; DAVID et al., 2013a; GLASS et al., 2016; HALD et al., 2004; MUGHINI-GRAS et al., 2014a; MULLNER et al., 2009a; WAHLSTRÖM et al., 2011). Este processo é denominado atribuição de fontes (do inglês, *source attribution*), e pode ser pautado por abordagens tais como a análise de dados de surtos, análise de casos esporádicos (sem vinculação conhecida com nenhum surto), subtipagem microbiana, avaliação de exposição comparativa, estudos intervencionais e elicitção de especialistas (PIRES, 2009).

Na Europa, a predominância de sorovares variou entre países em todas as fontes animais (carcaças de frango, linfonodos de suínos, poedeiras e perus) (EFSA, 2010). Em suínos, os sorovares isolados predominantemente foram *S. Typhimurium* e *S. Derby*. Em poedeiras, *S. Enteritidis* e *S. Infantis* (DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015a). No Rio Grande do Sul, *S. Enteritidis* também é o sorovar mais isolado em frangos de corte (RIBEIRO et al., 2007), ao passo que em suínos e seus derivados cárneos foram isolados *S. Typhimurium*, *S. Panama* e *S. Bredeney* (CASTAGNA et al., 2004). Dado que há uma distribuição heterogênea de diferentes sorovares de *Salmonella* spp. em reservatórios animais distintos, assume-se que o risco de contaminação pela população se dá em função desta prevalência e pela quantidade de alimentos consumida. Além disto, há o pressuposto de que tanto os sorovares possuem características intrínsecas distintas de patogenicidade quanto os alimentos possuem capacidades díspares de veicular tais microrganismos. O conhecimento microbiológico em diferentes pontos de exposição da cadeia de alimentos servirá para o direcionamento de medidas de mitigação de riscos de transmissão de doenças transmitidas por alimentos.

Um sistema de segurança dos alimentos moderno inclui os conceitos de proatividade, prevenção, responsabilidade compartilhada, integração, controle do processo de produção e aplicação da análise de risco, pois seus princípios e técnicas

permitem o diagnóstico de problemas e a definição de soluções mais específicas e eficientes. A fim de se priorizar intervenções efetivas em sanidade alimentar e reduzir infecções humanas, é crucial determinar o impacto de diferentes fontes na transmissão dessas doenças (HAVELAAR et al., 2007). À medida que a análise de risco instrumentaliza os processos de tomada de decisão, a atribuição de fontes, uma abordagem descritiva por técnica Bayesiana para estimar o número de casos atribuídos a fontes, relativamente nova e alternativa à avaliação de risco clássica, também vem contribuindo com embasamento científico para a definição de metas e de estratégias para a redução da ocorrência das doenças transmitidas por alimentos e água; o planejamento e a implementação de intervenções adequadas, bem como o monitoramento de resultados.

Em 1999, em parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) e o Instituto Pan-Americano de Alimentos da Organização Panamericana da Saúde (OPAS), foi implantado o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA), após acordos internacionais serem subscritos pelo Brasil na VIII Reunião Interamericana de Saúde Ambiental de Nível Ministerial e na XXXV Reunião do Conselho Diretor da OPAS (CARMO et al., 2005). Um dos objetivos específicos traçados para reduzir a incidência das DTA no país é identificar locais e alimentos relacionados com a casuística reportada. O Sistema tem caráter orientativo às Secretarias Municipais de Saúde (SMS), as quais são responsáveis pelas investigações epidemiológicas de surtos. A Coordenação Geral de Laboratórios (CGLAB) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde gerencia a rede formada pelos Laboratórios Centrais (LACEN) em todas as unidades federadas, as quais recebem e processam as amostras clínicas e bromatológicas dos casos e surtos de DTA, incluindo a sorotipificação e provas de identificação molecular (CARMO et al., 2005).

Desde 2005, o VE-DTA implantou o *Global Salm Surveillance* (GSS) no Estado do Rio Grande do Sul, que atende a compromissos internacionais com a Organização Mundial de Saúde (OMS) e a OPAS. Sob a perspectiva de uma saúde integrada entre humanos, animais e ambiente, o programa visa identificar isolados de *Salmonella* spp. encontrados em nível de sorovar para determinar o seu perfil epidemiológico. Desde então, 11 hospitais com Núcleo de Vigilância Epidemiológica Hospitalar (NVEH) fazem parte do programa, os quais remetem suas amostras às sessões de microbiologia e bacteriologia do Instituto de Pesquisas Biológicas do Laboratório Central do Estado



(IPB-Lacen) da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS/RS). No Sistema de Informações Hospitalares (SIH/2011) consta que 3200 pessoas foram internadas por diarreia e gastroenterite de origem infecciosa e fonte presumível (FIGUEIREDO et al., 2013).

A análise de risco tem ganhado enfoque devido aos novos modos de produção e processamento, alteração nos padrões de consumo e expansão do mercado internacional que contribuem para o surgimento de novos perigos. Acordos de comércio internacional têm estabelecido regras e padrões para a produção e o comércio de alimentos inócuos e de qualidade. Nesse sentido, em 25 de janeiro de 2013, por meio da Portaria da Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) nº 17/2013 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), foi criada a Comissão Científica Consultiva em Microbiologia de Produtos de Origem Animal que possibilita a soma de esforços entre governo e academia para avançar na gestão microbiológica do sistema de inspeção brasileiro. Os Programas Nacionais de Controle de Patógenos permitem identificar a prevalência dos patógenos em produtos de origem animal produzidos pelos estabelecimentos brasileiros registrados junto ao Sistema de Inspeção Federal (SIF). Com isso, será possível ao Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) identificar e estabelecer medidas de controle para o perigo, implantar essas medidas de controle e monitorar os resultados obtidos a fim de garantir a segurança de alimentos do consumidor (BRASIL, 2017).

A intensificação da produção animal brasileira tem levado em conta atributos de sanidade e melhoramento zootécnico. Porém, a busca por volume de carne produzida para suprir o mercado nacional e internacional vem acompanhada de exigências de qualidade e garantia de inocuidade para o consumidor. Modernizações da produção podem modificar o perfil de risco zoonótico atribuído às carnes de origem animal. Em sistemas de produção menos tecnificados, doenças parasitárias são mais prováveis e produzem lesões macroscópicas na inspeção visual. Atualmente, as parasitoses costumam ser controladas na produção animal intensiva, ao passo que a contaminação por bactérias causadoras de doenças transmitidas por alimentos, com detecção por pesquisa laboratorial, representa um dos principais riscos (EFSA, 2011, 2013).

O impacto de doenças transmitidas por alimentos na saúde pública é globalmente subestimado, em especial em países em desenvolvimento (ODEYEMI, 2016). A iniciativa da OMS para estimar a carga global de doenças transmitidas por alimentos foi lançada em virtude da necessidade de preencher essa lacuna no

conhecimento vigente. Dados do Brasil apontam que as salmonelas são as principais causas de infecção alimentar. A partir de agosto de 1999, houve a criação do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídricas e Alimentares, sob a gerência nacional da Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde. As investigações de surto são de competência conjunta das Vigilâncias Epidemiológica e Sanitária dos municípios. Os surtos de doenças de transmissão hídricas e alimentares (DTHA), os quais vêm aumentando de modo significativo em nível mundial, somente foram contemplados no Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN Web) a partir de 2007, provocando um aumento de mais de 100% no número de notificações neste ano comparado ao ano anterior. Este salto demonstra que novas tecnologias e ferramentas de comunicação facilitada e contínua têm o potencial de melhorar a vigilância sanitária e epidemiológica.

Para obter um melhor entendimento do mecanismo por trás das dinâmicas na ocorrência de infecções por *Salmonella* spp. em humanos, (HALD et al., 2004) desenvolveram uma abordagem de subtipagem microbiana. O princípio é comparar sorovares de *Salmonella* spp. isolados de animais e alimentos com sorovares de *Salmonella* spp. isolados em humanos, assumindo que os sorovares são distribuídos clonalmente nas diferentes fontes. O modelo estocástico é construído numa estrutura Bayesiana e possibilita a análise das diferenças entre os vários sorovares de *Salmonella* spp. e fontes alimentares considerando seus potenciais em causar infecções em humanos. O escopo da inferência Bayesiana tem aumentado consideravelmente pela invenção e avanços recentes de ferramentas baseadas em simulação para inferência estatística, especialmente o método de simulação de Monte Carlo via cadeias de Markov (MCMC). A análise de muitos dos modelos complexos com abordagem Bayesiana é baseada em métodos MCMC. A maioria das análises Bayesianas requerem *softwares* especializados, e uma das opções é o programa livre WinBUGS, posteriormente substituído pelo OpenBUGS, desenvolvido pelo *Medical Research Council Biostatistics Unit*, de Cambridge. BUGS é a sigla em inglês para *Bayesian analysis using Gibbs sampling*, que é um tipo particular de algoritmo MCMC (DOHOO; MARTIN; STRYHN, 2009).

Esta tese proporciona uma análise bayesiana para estimativa de casos humanos atribuídos a fontes animais de comprovada importância para auxiliar na tomada de decisões frente à segurança dos alimentos, transformando em informação os dados coletados e descritos de maneira sistemática. Para tal, foram utilizados dados existentes:

(a) de prevalência nos reservatórios animais obtidos através da monitoria de salmonelose em frangos de cortes, perus e suínos do Serviço Veterinário Oficial do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, (b) de estudos conduzidos pelo Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, (c) de investigações de surtos compilados pela Vigilância Epidemiológica de Doenças Transmitidas por Alimentos do Centro Estadual de Vigilância em Saúde (CEVS) e (d) da Vigilância Sanitária de hospitais vinculados ao GSS, compiladas no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul (LACEN-RS). Além destas fontes, dados da Produção Pecuária Municipal (PPM) do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística e dados de trânsito de alimentos de origem animal oriundos de Estados brasileiros foram utilizados para ponderar a exposição envolvendo o consumo de produtos de origem animal. Prevê-se que este esforço permitirá que políticos e outras partes interessadas definam as prioridades adequadas, baseadas em evidências na área da segurança de alimentos.

O objetivo geral foi conduzir estudos de atribuição de fontes em uma perspectiva estadual e avaliar a utilidade dos métodos e a relevância dos resultados para manejo de riscos. A seguinte hipótese foi levantada:

- Os casos atribuídos a humanos ocorram devido a diferentes combinações de fontes alimentares e sorovares de *Salmonella* spp.

Para testar a hipótese, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- 1.1.1 Desenvolver e aplicar modelos Bayesianos baseados em sorotipificação microbiana e análise de dados de investigações de surtos para estimar o número de casos de sorovares específicos de *Salmonella* spp. por origem alimentar no Estado;
- 1.1.2 Comparar e discutir os resultados obtidos com as abordagens de sorotipificação microbiana e análise de dados de investigações de surtos;
- 1.1.3 Fazer recomendações de como os resultados podem servir para priorizar o controle em fontes no processo de mitigação de riscos.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A transmissão da *S. enterica* fornece um exemplo convincente do paradigma de saúde unificada, porque a redução de infecções humanas exigirá a redução de salmonelas em animais e a limitação da transmissão pelo ambiente. Sem o conhecimento dos principais reservatórios de *Salmonella*, a prevenção seria muito difícil. Métodos para distribuir a carga da doença humana a fontes específicas têm sido realizados sob o termo atribuição de fontes.

### 2.1 Salmonelose não tifoidal

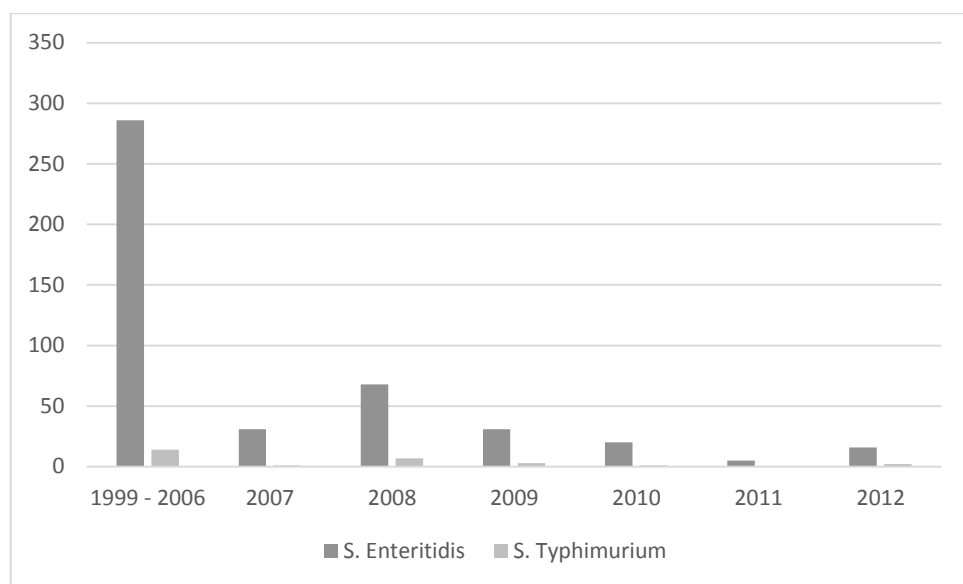
*Salmonella* spp. pertence à família das *Enterobacteriaceae*, é um cocobacilo Gram-negativo, não esporulado, móvel por meio de flagelos peritríqueos (com poucas exceções) tendo metabolismo tanto respiratório quanto fermentativo (HOLT et al., 1994). A faixa de crescimento de *Salmonella* spp. ocorre entre 25-43°C, sendo relatada a multiplicação em temperaturas de refrigeração (4-10 °C) e morte em temperaturas acima de 55°C. A faixa de pH suportado varia de 4,5 até 9,5, sendo o valor ótimo para o crescimento próximo a 7,4 (BUNCIC, 2006).

Os sintomas característicos de doenças alimentares causadas por *Salmonella* incluem diarreia, náusea, dor abdominal, febre branda e calafrios, e, algumas vezes, vômitos, cefaleia e fraqueza, após um período de incubação de 12 a 36 horas. A enfermidade costuma ser auto-limitante e persiste durante 4 a 7 dias, dependendo da dose infectante, virulência da cepa e suscetibilidade do hospedeiro. Pessoas infectadas excretam grandes quantidades de *Salmonella* pelas fezes por um período de até cinco semanas, de maneira decrescente, podendo persistir por até três meses e se instalar cronicamente em cerca de 1% dos casos. Às vezes, sequelas crônicas tais como artrite reativa, podem ocorrer após a recuperação clínica (ACHA; SZYFRES, 2001). Infecções sistêmicas podem ocorrer devido a certos sorovares como, por exemplo, *S. Dublin* e *S. Choleraesuis*, as quais podem requerer fluidoterapia (FORSYTHE, 2007) e, apesar de não serem comuns, podem ameaçar a vida.

Salmonelose é a terceira doença mais importante no grupo de doenças transmitidas por alimentos e praticamente todos os países têm salmonelose entre suas populações humana e animal (KIRK et al., 2015). No RS, de 1980 a 2012, foram notificados 4071 surtos, abrangendo 358.161 pessoas expostas ao risco de adoecer, com 49.451 doentes e 11 óbitos. Entre 2000 e 2012, foram notificados 2371 surtos de DTA, afetando 28.401 pessoas que adoeceram e causando quatro óbitos (FIGUEIREDO et al.,

2013). Dos surtos notificados, 1492 (62,9%) foram investigados e destes, 979 (65,6%) tiveram a causa confirmada. *Salmonella* spp. desponta como a maior causadora de surtos alimentares até 2011. Do total de 245 surtos de *Salmonella* spp. confirmados por análise laboratorial e/ou epidemiológica no período de 2005 a 2014 no Rio Grande do Sul, 104 (42,3%) tinham ambos o agente etiológico de interesse em nível de sorovar e os respectivos alimentos implicados. Dentre os sorovares mais prevalentes destacam-se *Salmonella* Enteritidis, seguida de *S. Typhimurium* (Figura 2).

**Figura 2** – Principais sorovares de *Salmonella* identificados na bromatologia de surtos alimentares no Rio Grande do Sul no período de 1999 a outubro 2012.



Fonte: DVE/ CEVS/ SES-RS (FIGUEIREDO *et al.*, 2013)

Baseado na evidência epidemiológica, subtipos de *Salmonella* podem ser hospedeiro-adaptados, hospedeiro-ubiquitários ou hospedeiro-específicos, sendo esta última categoria capaz de estabelecer uma população estável em hospedeiros animais específicos, mas ainda assim podendo infectar outros hospedeiros (KINGSLEY; BÄUMLER, 2000; UZZAU *et al.*, 2000). Assim, ao infectar outros hospedeiros, o grau de adaptação afetará a patogenicidade, podendo causar uma síndrome clínica mais severa que nos hospedeiros originais. As febres tifóide e paratifóide por *S. Typhi* e *S. Paratyphi* causam febre e sintomas abdominais e são adaptadas ao homem e geralmente não patogênicas a animais, sem potencial zoonótico (ACHA; SZYFRES, 2001). Existem mais de 1.500 subtipos de *Salmonella* que são patogênicos aos humanos. Subtipos não-tifoidais ubiquitários afetam uma ampla gama de animais, causando infecções gastrointestinais de severidade variável. Outros sorotipos são adaptados a um

hospedeiro animal, como, por exemplo, *S. Gallinarum* em frangos e *S. Dublin* em bovinos. Tais sorovares podem infectar humanos, onde causarão, ou não, doença branda a severa (ACHA; SZYFRES, 2001).

*Salmonella* spp. pode se estabelecer no trato intestinal ou em outros tecidos de um grande número de espécies no reino animal, causando doença ou permanecendo assintomática, em que pode ser excretada com as fezes por extensos períodos de tempo permitindo a transmissão entre animais e humanos antes mesmo da detecção. Suínos e caprinos raramente desenvolvem febre e diarreia, ao contrário de bovinos, ovinos e equinos. Frangos adoecem quando acometidos pelos sorotipos hospedeiro-específicos *S. Gallinarum* e *S. Pullorum* (ACHA; SZYFRES, 2001). Embora sorovares zoonóticos de *Salmonella* ocorram em praticamente todas as espécies de animais de produção, os sorovares hospedeiro-ubiquitários comumente estão mais associados com um reservatório animal em particular.

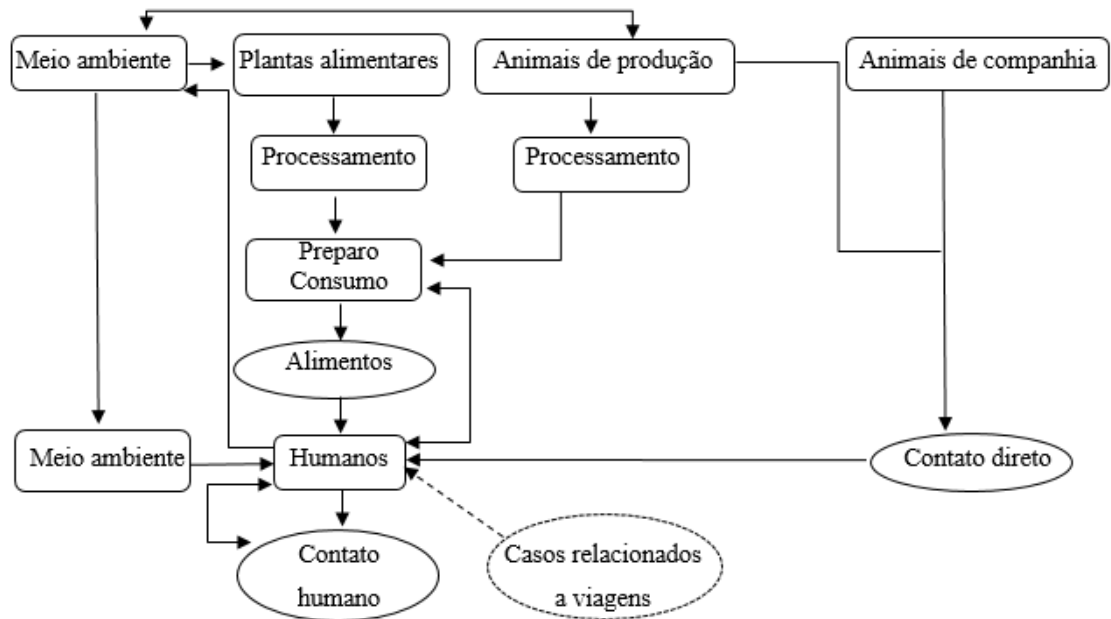
O meio de transmissão de *Salmonella* spp. dos animais ao homem é bem conhecido. Os primeiros surtos documentados na Europa Ocidental foram causados pelo consumo de carne insuficientemente cozida de animais sofrendo de salmonelose aguda (SCHWABE, 1969). Alimentos de origem vegetal contaminados por produtos animais, excretas humanas, ou utensílios sujos, tanto em cozinhas comerciais, industriais ou residenciais, têm ocasionalmente sido implicados como veículos de salmonelose humana (ACHA; SZYFRES, 2001). Todavia, o potencial de um alimento como fonte de transmissão não depende apenas do sorovar infectante, da prevalência no rebanho ou na contaminação no varejo, mas também da maneira como ele é tradicionalmente preparado na região de consumo. Métodos de preparo de alimentos têm um papel importante na infecção humana por fontes de alimento contaminadas, uma vez que *Salmonella* se desenvolve otimamente a uma temperatura de 37 °C e pode ser inativada pelo cozimento (KOVATS et al., 2004).

Há décadas, Schwabe (1969) relatava que o aumento da magnitude desta doença é devido às mudanças estruturais da agricultura, tais como a produção massiva, o confinamento de um grande número de animais por unidade de área, o fluxo contínuo de animais suscetíveis em rebanhos infectados (PIRES; FUNK; BOLIN, 2014) e o uso de ração contaminada. Em estudo comparativo de prevalência no Canadá em humanos, animais e coleções de água, *Salmonella* spp. foi isolada mais frequentemente em fezes de frango (55%), seguido de fezes de suíno (30%) e de bovino (leiteiro, 13%, e de corte, 10%). Nas amostras de água, 23% continham *Salmonella* spp. de importância zoonótica

(FLOCKHART et al., 2017). Em aves poedeiras, foram observadas diferenças na taxa de contaminação da casca e do conteúdo do ovo tanto por diferentes sorovares quanto por diferentes níveis de prevalência nas granjas (ARNOLD et al., 2014).

Embora o controle de salmonelose durante o processamento e consumo dos alimentos seja teoricamente simples, uma vez que *Salmonella* spp. é sensível ao calor, baixo pH e não se multiplica em temperaturas de refrigeração normais, o problema é complicado na prática por hábitos alimentares arraigados e desconhecimento generalizado dos riscos. Por exemplo, a OMS indentificou os cinco comportamentos primários que contribuem para a ocorrência de DTA: cozimento impróprio; armazenamento prolongado em temperaturas elevadas; falta de higiene e sanitização de manipuladores de alimentos; contaminação cruzada entre alimentos crus e frescos, prontos para o consumo; e aquisição de alimentos de fontes não seguras (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006). A atribuição de infecções por *Salmonella* spp. em humanos a fontes específicas nas diferentes etapas da cadeia de alimentos (ex., produção e consumo) pode direcionar esforços no controle desta zoonose (BATZ et al., 2005; DAVID et al., 2013a; DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b; MUGHINI-GRAS et al., 2014a). A Figura 3 representa as principais rotas de transmissão de patógenos entéricos dos reservatórios até a exposição humana. No ponto de reservatório estão incluídos o meio ambiente, alimentos (plantas e animais de produção) e animais de companhia; no ponto de exposição, todos que cerceiam humanos. Dentre eles, os alimentos se diferem por possuírem etapas prévias ao seu consumo, que vão ser determinantes na probabilidade final de ocorrência de um desfecho.

**Figura 3** – Principais rotas de transmissão de patógenos entéricos



Fonte: o próprio autor.

## 2.2 Saúde Unificada e Análise Secundária de dados existentes

Os estudos epidemiológicos em saúde humana e animal utilizam inquéritos ou análises secundárias de dados. A coleta e a interpretação dos dados são feitas nos setores de saúde animal e humana e durante diferentes períodos de maneira segregada. Caso um tópico de saúde comum seja abordado, sem integração entre os setores, poderá haver duplicação desnecessária de estudos de campo. Estudos sobre zoonoses e patógenos transmitidos por alimentos são principalmente liderados por veterinários. Uma abordagem clássica do setor pecuário para os patógenos veiculados por alimentos é a avaliação de risco ao longo da cadeia de produção e comercialização. Isso permite a identificação do ponto de maior impacto das medidas de controle. No entanto, as incidências humanas não são avaliadas diretamente. São identificados riscos para a saúde humana e os impactos na saúde humana são extrapolados dos números (SCHELLING; HATTENDORF, 2015). Avaliadores de risco de doenças transmitidas por alimentos estão se aproximando cada vez mais do setor de saúde pública e atalhos para identificar e quantificar os riscos podem ser alcançados. Novos sistemas integrados de vigilância de doenças estão sob avaliação (WENDT; KREIENBROCK; CAMPE, 2015).



Um estudo de saúde unificada implica que os dados sobre saúde humana e animal, e possivelmente dados sobre indicadores ecológicos sejam analisados de forma integrada, e os resultados interpretados em conjunto. Às vezes esses dados são de diferentes estudos ou utilizam fontes distintas, mas devem ser comparáveis em termos de localização, tempo, nível de agregação, detalhes e qualidade; e uma equipe multidisciplinar deve publicar seus resultados juntos. Um estudo de saúde unificada deveria levar a *insights* que não seriam visíveis sem a colaboração intersetorial, como impactos de infecções de múltiplos hospedeiros na saúde e economia de humanos, animais e ecossistemas. Rabinowitz *et al.* (2013) (RABINOWITZ *et al.*, 2013) definiram uma abordagem de saúde similar: “Abordagens integradas que consideram componentes de saúde humana, animal e ambiental que podem melhorar a previsão e o controle de certas doenças”. Isso não é verdade apenas para doenças infecciosas, mas também para doenças não transmissíveis e fortalecimento dos sistemas de saúde. O objetivo não é necessariamente melhorar a saúde humana ou evitar o ônus das doenças aos humanos. Messenger *et al.* (2014) (MESSENGER; BARNES; GRAY, 2014) mostraram que um número crescente de relatórios indica que os seres humanos estão transmitindo patógenos aos animais. Exemplos recentes incluem *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina, vírus da influenza A, *Cryptosporidium parvum* e *Ascaris lumbricoides*. Um estudo de saúde mostraria relações bi e multidirecionais entre a saúde humana e animal e sua saúde em relação à saúde de seu ecossistema (ZINSSTAG, 2012). Assim, o objetivo é idealmente melhorar a saúde humana, animal e do ecossistema.

O controle de infecções transmitidas por alimentos e transmitidas pela água requer a contribuição dos profissionais da saúde pública, da saúde ambiental e da saúde pública veterinária, bem como das autoridades reguladoras responsáveis pela segurança de alimentos e da água. É necessário também um profundo entendimento de como fatores sociais, econômicos, ambientais e culturais interagem com a dinâmica da transmissão de doenças e a aceitação de medidas de controle (VETERINARIANS WITHOUT BORDERS, 2010). O Programa de Eco-Saúde do Caribe (do inglês, *Caribbean EcoHealth Programme*, CEHP) apoiou a formação interdisciplinar, particularmente de agentes de saúde humana e ambiental, e ajudou a identificar lacunas regionais de conhecimento em ameaças à saúde ambiental importantes para usuários e formuladores de políticas, como os resíduos de pesticidas. O Laboratório Móvel

Atlantis poderia se deslocar por todo o Caribe e ser capaz de responder às demandas por oportunidades específicas de construção (FORDE et al., 2011).

Baseado no National Institute of Health (NIH) dos Estados Unidos, análises de dados primários se limitam a análises de dados por membros de uma equipe de pesquisadores os quais coletaram os dados, que são conduzidas para responder a hipótese original proposta no estudo. Todas as demais análises de dados coletadas para estudos de pesquisas específicas ou análises de dados coletados para outros fins, incluindo dados de registro, são considerados análises secundárias de dados existentes, independentemente de as pessoas que conduziram a nova análise terem participado da coleta dos dados (CHENG; PHILLIPS, 2014). Cada vez mais, dados primários são criados por outros pesquisadores e disponibilizados para reutilização pela comunidade de pesquisa em geral. Os dados podem servir para (1) a descrição de atributos contemporâneos e históricos, (2) pesquisa comparativa ou replicação da pesquisa original; (3) reanálise (fazendo novas perguntas sobre os dados que não foram originalmente abordados), (4) desenho de pesquisa e avanço metodológico, e (5) ensino e aprendizagem (HOX; BOEIJE, 2005).

Além de universidades, organizações estabelecidas principalmente com o propósito de disseminar dados para a comunidade de pesquisa em geral, outras organizações como instituições estatísticas regionais e nacionais também coletam dados (HOX; BOEIJE, 2005). Há duas abordagens gerais para a análise de dados existentes: a abordagem de pesquisa orientada pela questão e a abordagem baseada em dados. Na abordagem de pesquisa orientada pela questão, pesquisadores possuem uma hipótese *a priori* ou uma questão em mente e então procuram bancos de dados adequados para resolvê-la. Na abordagem baseada em dados, pesquisadores verificam variáveis em determinados bancos de dados e decidem quais tipos de questões podem ser respondidas pelos dados disponíveis. Na prática, ambas as abordagens são comumente utilizadas em conjunto e iterativamente (CHENG; PHILLIPS, 2014). Entretanto, o uso de dados secundários deve considerar restrições potenciais, como vieses intrínsecos, qualidade interna e limites inferenciais (AAKER; KUMAR; DAY, 2001).

O uso de dados existentes apresenta problemas característicos aos pesquisadores. Além da necessidade de localizar dados úteis, dado o problema de pesquisa, é necessário recuperar dados relevantes e, por fim, avaliar quão bem os dados atendem a requisitos de qualidade da pesquisa atual e os critérios metodológicos da boa prática científica (HOX; BOEIJE, 2005). Em geral, é aceitável se limitações dos dados

disponíveis restrinjam a análise secundária até certo ponto, a saber, impedindo o teste de algumas hipóteses. Contudo, não é aceitável se as limitações dos dados obrigarem a mudar a questão a fim de poder usá-los em absoluto. Em todo o caso, é importante avaliar a qualidade dos dados. Isto requer que informações adicionais sejam arquivadas com os dados em si. Tais informações devem pelo menos incluir o propósito do estudo, operacionalização, detalhes da coleta de dados (quem, quando, e onde), entidades sendo estudadas e critérios de amostragem, e quaisquer vieses conhecidos (HOX; BOEIJE, 2005).

Tipicamente, pesquisadores que utilizam dados secundários precisam selecionar subconjuntos específicos de variáveis ou grupo de casos. A análise de dados quantitativos geralmente começa com um processo em que os dados são limpos – registros incompletos devem ser editados ou automaticamente incluídos, dados não normais devem ser transformados, valores agregados devem ser calculados, e assim por diante (HOX; BOEIJE, 2005). Dados coletados em sistemas de monitoramento e vigilância de um programa em saúde animal podem ser considerados como fontes secundárias de dados, (AAKER; KUMAR; DAY, 2001; TODESCHINI et al., 2018). O resultado de análises integradas entre sistemas é a otimização de recursos e eficiência da ação (SALMAN, 2008), além do aumento da capilaridade dos sistemas de atenção veterinária (WELLS et al., 2009).

### **2.3 Avaliação de risco e de atribuição de fonte de doenças transmitidas por alimentos**

Os métodos de atribuição de fonte e avaliação de risco microbiano têm sido amplamente aplicados para o controle de vários patógenos alimentares em todo o mundo, identificando (i) as fontes mais importantes de patógenos e (ii) o risco representado por alimentos específicos e pontos críticos nas cadeias de produção desses alimentos para auxiliar no controle microbiano. Tais evidências têm se mostrado cruciais para que os gestores identifiquem e priorizem estratégias eficazes na segurança de alimentos e saúde pública (PIRES; DUARTE; HALD, 2018). A atribuição de fontes é uma disciplina relativamente nova que foi desenvolvida para ajudar gestores a identificar e priorizar medidas eficazes de intervenção em segurança de alimentos.

DTAs surgem do consumo de alimentos ou produtos associados contaminados com vírus, parasitas e bactérias (incluindo suas toxinas) ou químicos. Casos podem ocorrer de maneira esporádica ou, se conectados por uma fonte comum, como surtos.

Surtos de DTA são agudos, ainda que relativamente curtos, com impactos regionais e comumente envolvem *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Listeria* spp. ou Norovirus. Surtos prolongados são frequentemente devido a falhas na identificação dos riscos ou devido à inabilidade de rastrear sua fonte. Através do aumento da urbanização e a internacionalização das cadeias de produção de alimentos, a necessidade de vigilância global de patógenos transmitidos por alimentos tem sido priorizada por governos nacionais bem como por organizações mundiais tais como a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), Organização Mundial da Saúde (WHO) e Organização Mundial de Saúde Animal (OIE). ´

Atribuir casos humanos de DTA a fontes putativas de infecção é crucial para identificar alvos para intervenções na cadeia de produção de alimentos (PIRES et al., 2009). Além das abordagens epidemiológicas tradicionais de atribuição de fontes como investigações de surtos (PIRES et al., 2010) e estudos caso-controle de casos esporádicos (FULLERTON et al., 2012), os quais são prejudicados por vários fatores como exposição simultânea a múltiplas fontes (por exemplo, alimentos complexos) e vies de seleção/informação, várias abordagens microbiológicas foram desenvolvidas (PIRES et al., 2014). Estas abordagens baseiam-se na modelagem estatística de dados de subtipagem microbiana, que freqüentemente derivam de sistemas integrados de vigilância de casos humanos e ocorrências de patógenos em fontes animais, alimentares e ambientais selecionadas (PIRES et al., 2009). O sistema de vigilância integrada permitiu que a Dinamarca atribísse infecções por *Salmonella* a fontes animais/alimentares específicas e permitiu que países europeus investigassem e controlassem mais eficientemente surtos de DTA (BERTRAND et al., 2010; BRUUN et al., 2009; HALD et al., 2004).

Uma variedade de métodos de atribuição de fonte está disponível para estimar a contribuição relativa de diferentes reservatórios ou veículos de patógenos de origem alimentar, incluindo métodos baseados em dados sobre a ocorrência do patógeno em fontes e seres humanos, estudos epidemiológicos, estudos de intervenção e elicitções de especialistas. O ponto da atribuição pode variar do reservatório (produção animal ou emissão ambiental) ao consumidor (fim da cadeia de transmissão), dependendo dos dados disponíveis e da questão levantada pelos gestores.

Os modelos chamados de atribuição de fontes por “correspondência de frequência” holandês (modificado) (MUGHINI-GRAS et al., 2014a; VAN PELT et al., 1999) e dinamarquês (HALD *et al.*, 2004; MULLNER *et al.*, 2009a; DAVID *et al.*,

2013b), que se baseiam na correspondência de um para um dos subtipos microbianos em humanos e fontes, têm sido amplamente utilizados para a atribuição de fontes dos principais patógenos bacterianos dos alimentos. Estudos têm focado em *Salmonella* (HALD *et al.*, 2004; HALD; LO FO WONG; AARESTRUP, 2007; MULLNER *et al.*, 2009a; GUO *et al.*, 2011; DAVID *et al.*, 2013a; MUGHINI-GRAS *et al.*, 2014a, 2014c; DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b; DE KNEGT *et al.*, 2016; VIEIRA *et al.*, 2016) e *Campylobacter* (MULLNER *et al.*, 2009a, 2009b; BOYSEN *et al.*, 2014) e, em menor grau, *Listeria* spp. (LITTLE *et al.*, 2010; NIELSEN *et al.*, 2017) e *E. coli* produtora de Shiga-toxina (STEC) (MUGHINI-GRAS *et al.*, 2018). Nestes estudos os subtipos foram definidos por fenotipagem (por exemplo, sorotipagem, tipagem de fagos, resistência antimicrobiana) ou genotipagem (por exemplo, tipagem de sequência de múltiplos locos e análise de repetição em tandem de número variável de múltiplos loci).

Abordagens de atribuição de fonte baseadas na relação genética entre isolados de seres humanos e fontes consistem em modelos de genética de populações como STRUCTURE (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000) e o modelo de ilha assimétrica (WILSON *et al.*, 2008), que têm diferentes alvos genéticos (por exemplo, números de alelos, microssatélites, polimorfismos de nucleotídeo único). As aplicações desses modelos limitam-se principalmente a *Campylobacter* (MOSSONG *et al.*, 2016; MUGHINI GRAS *et al.*, 2012; SHEPPARD *et al.*, 2009; SMID *et al.*, 2013; STRACHAN *et al.*, 2012, 2009; WILSON *et al.*, 2008) e, em menor escala, a *Salmonella* (BARCO *et al.*, 2015; MUGHINI-GRAS *et al.*, 2014b) e *Listeria* (NIELSEN *et al.*, 2017). O escopo de patógenos endereçáveis com esses modelos aumentará nos próximos anos à medida que a "revolução" do Sequenciamento Completo do Genoma (do inglês, *whole genome sequencing*, WGS) aumentar a aquisição de dados de alta produtividade (FRANZ; GRAS; DALLMAN, 2016). Embora o alto poder discriminatório dos dados moleculares possa ser ajustado para usar os modelos de correspondência de frequência (DE KNEGT *et al.*, 2016), as abordagens de genética populacional são uma maneira mais promissora de progresso. Eles permitem avaliar a história genealógica e as relações evolutivas entre as linhagens levando em conta eventos de mutação, recombinação e migração. Uma característica dos modelos de genética de populações é que os tipos de linhagens encontrados exclusivamente em humanos e não em fontes ainda conhecidas podem ser atribuídos, geralmente ao geneticamente mais próximo. Isso pode ser considerado uma vantagem ou uma limitação. Seja qual for o caso, vale a pena quando as combinações perfeitas de tipos de

cepas entre humanos e fontes são inatingíveis, dados os alvos genéticos altamente discriminatórios investigados e o número geralmente limitado de fontes representadas. Para a atribuição de fontes baseadas no WGS, é essencial confiar em redes de laboratórios que compartilham dados genômicos (e epidemiológicos), trabalhando em conjunto para harmonizar métodos, dados de entradas e de saídas.

A escolha do método de atribuição da fonte depende do ponto de atribuição ao longo da “fazenda à mesa” e do contexto epidemiológico, bem como a qualidade/completude dos dados disponíveis e as características do patógeno em questão. Para métodos microbiológicos, o ponto de amostragem das fontes determina o ponto de atribuição, daí a meta de gestão de risco (MUGHINI-GRAS; VAN PELT, 2014). De fato, enquanto métodos epidemiológicos como estudos de caso-controle são mais adequados para atribuir casos esporádicos “retrospectivos” a exposições alimentares específicas, rotas de transmissão e fatores de risco, os métodos microbiológicos podem atribuir casos esporádicos ao nível de reservatório (ou seja, hospedeiro amplificador). Além disso, ao usar modelos de correspondência de frequência, os subtipos sobre os quais a atribuição depende devem possuir alguma estabilidade ao longo da “fazenda à mesa”, uma vez que são frequentemente comparados entre a produção primária e os casos humanos. Se este não for o caso, os modelos genéticos de populações, responsáveis pela evolução, devem ser preferidos. Os métodos microbiológicos, no entanto, não são adequados para atribuir patógenos com baixa diversidade de genotipagem/fenotipagem (isto é, distribuição não heterogênea entre fontes) e patógenos com apenas um reservatório reconhecido em um dado cenário (por exemplo, gatos para *Toxoplasma gondii*). Além disso, os modelos de avaliação quantitativa de risco (do inglês, *quantitative risk assessment*, QRA) podem ser usados para avaliar as contribuições relativas de diferentes reservatórios, rotas de transmissão, fatores de risco e exposições, mas na prática eles são usados principalmente para avaliar um número limitado de fontes às quais os consumidores estão diretamente expostos.

Melhorias na vigilância junto com a globalização e industrialização dos sistemas agroalimentares têm contribuído com a elucidação da magnitude dos perigos alimentares circulando atualmente, resultando em métodos de prevenção de doenças e gestão de riscos visados por todos os interessados. Medidas políticas incluem o estabelecimento dos níveis de tolerância para vários contaminantes baseado em evidências experimentais, devoluções forçadas (*recalls*) de alimentos, onde níveis de contaminantes são encontrados acima dos níveis aceitos legalmente. No entanto, devido

à natureza do desfecho, os perigos geralmente causam efeitos dramáticos no mercado de consumo e, assim, medidas têm sido tomadas para identificar, prevenir e gerenciar riscos de contaminação antes que eles ocorram. Avaliações de risco são orientadas por dados e então requerem dados de monitoramento e vigilância bem como de uma gama de experimentos em animais e modelos laboratoriais. Adicionalmente, avaliações de risco também podem ser utilizadas para auxiliar o planejamento de programas de vigilância.

A maioria das avaliações quantitativas de risco geralmente lida com um patógeno que ocorre em um único produto alimentício e é direcionada para identificar opções de prevenção, intervenção e controle. Para patógenos selecionados para os quais dados sobre o nível de contaminação ao longo da cadeia de produção de alimentos, práticas do consumidor e relações dose-resposta estão disponíveis, a QRA oferece outra opção para atribuição de fonte “prospectiva”. Os modelos de QRA têm o potencial de estimar a proporção de casos atribuíveis a fontes para todos os pontos da cadeia de produção de alimentos, levando em conta fatores (por exemplo, processamento de alimentos, armazenamento, consumo) que são difíceis de abordar com ferramentas típicas de vigilância de doenças. No entanto, incorporar a variação de virulência de cepas nos modelos dose-resposta continua sendo um desafio. Por outro lado, os modelos de atribuição de fontes fornecem informações sobre o impacto na saúde pública de todas as fontes e vias importantes (HAVELAAR et al., 2007). Estes métodos destinam-se a fornecer aos gestores um conjunto de ferramentas para a definição de prioridades, a fim de alcançar um controle mais direcionado das doenças (HAVELAAR et al., 2007). No geral, essas ferramentas são componentes vitais para a priorização de riscos e intervenções em sistemas de alimentos (DOYLE; ERICKSON, 2006).

A análise de risco é uma estrutura amplamente utilizada para identificar, discutir e gerir riscos em uma ampla gama de circunstâncias, incluindo o contexto de saúde pública. Avaliação de risco é o componente técnico da análise de risco, e inclui as etapas de caracterização de risco, avaliação de exposição e consequência. A avaliação de risco tem se tornado o método padrão para a determinação de riscos ao consumidor, particularmente aqueles relacionados ao comércio internacional que são referidos no Acordo Sanitário e Fitosanitário (CODEX ALIMENTARIUS, 1999). A Comissão do *Codex Alimentarius* (do inglês, *Codex Alimentarius Commission*, CAC) (CODEX ALIMENTARIUS, 1999) iniciou o desenvolvimento de uma estrutura padronizada para a aplicação de avaliações de risco em relação a alimentos através de um encontro

conjunto entre FAO/WHO em 1995 (FAO/WHO, 1997). Avaliações de risco para a segurança de alimentos têm sido conduzidas para uma variedade de doenças (SCHLUNDT, 2000), incluindo diferentes perigos bacterianos tais como *E. coli*, *Salmonella* spp.; e *Campylobacter* spp. (CASSIN et al., 1998). Em 2002, a União Européia criou a Autoridade de Segurança Alimentar (EFSA), uma agência criada especificamente para conduzir avaliações e comunicações de risco considerando a segurança de alimentos para humanos e animais (EUROPEAN PARLIAMENT, 2002).

A OIE define uma avaliação de risco como “a avaliação da probabilidade e das consequências biológicas e econômicas da entrada, estabelecimento ou disseminação de um agente patogênico dentro do território de um país” (OECD, 2013). Isto representa o processo pelo qual diversos caminhos, envolvidos na identificação, descrição e análise, associados com a transmissão de um dado perigo/ameaça são avaliados. O processo deve levar a um desfecho qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo representando o risco que certo perigo impõe a uma população específica. Avaliações de risco para a segurança de alimentos na estrutura utilizada pelo CAC, são conduzidas “da fazenda à mesa” (*from farm to table*), por exemplo, integrando processos ocorrendo na produção primária de alimentos de origem animal e vegetal, e também processos durante a colheita, processamento, armazenamento, manipulação e preparo. No caso da abordagem de uma Saúde Unificada, a avaliação deveria incluir a exposição de consumidores humanos e animais, envolvendo considerações de consumo, diferenças dietéticas entre consumidores e dosagem de exposição consequencial.

Avaliações de risco têm sido úteis para caracterização dos tipos de perigos que entram nas cadeias alimentares em vários pontos e como estes perigos são modificados ao longo do processo de manipulação de alimentos da “fazenda ao garfo” (*from farm to fork*). Perigos não são apenas categorizados como microbiológicos, mas podem ser também atribuídos de modo a incluir aspectos comportamentais e práticos, e, portanto, avaliações de risco que são capazes de abranger tal gama de fatores fazem contribuições úteis a uma abordagem de Saúde Unificada. A proposta de uma avaliação de risco pode ser relacionada a uma questão prática considerando a necessidade e a escolha do gerenciamento de risco. A avaliação de risco também pode ser utilizada para responder questões de pesquisa em estimativas de doenças ou para priorizar caminhos de transmissão alternativos. Cada avaliação é única, e metodologias têm de levar em conta essa heterogeneidade.



O Serviço de Segurança de Alimentos e Inspeção (Food Safety and Inspection Service, FSIS) do USDA demonstrou quão inclusiva pode ser uma avaliação de risco completa por meio do estudo relacionado ao risco da entrada de *S. Enteritidis* no consumo humano por meio de ovos. Este processo incluiu a aferição do risco em cada etapa da preparação, processamento, bem como transporte e armazenamento dos produtos alimentares (FSIS, USDA, 1998). Os resultados da avaliação foram comparados com os registros nacionais de casos humanos de *Salmonella* spp., em que uma significativa transposição foi observada entre dados de consumo e o número de casos humanos atribuídos a ovos infectados por *S. Enteritidis*. O principal propósito desta avaliação de risco foi determinar as discrepâncias entre previsão modelada da doença e vigilância ativa. Depois de testar para contaminações possíveis em cada etapa envolvida no abate e processamento de animais, um estudo de caso-controle humano foi realizado para completar o conceito de segurança de alimentos “da fazenda à mesa”. Os principais desafios são parametrizar o modelo para que o risco ao longo da cadeia possa ser estimado. O conhecimento intersetorial e troca de dados são necessários para validar a avaliação de risco ao longo da cadeia alimentar com a ocorrência de doença na população.

Ao avaliar riscos relacionados à saúde, o volume de consumo de um alimento específico terá impacto direto no risco à medida que quantifica a exposição. Assim sendo, esforços para quantificar consumos de alimentos são importantes para permitir validar as avaliações. Nos últimos anos, a EFSA tem desenvolvido o Banco de Dados Conciso de Consumo Alimentar Europeu, o qual inclui uma lista de alimentos de origem animal para consumo humano. Esta lista é um exemplo de como informações agrícolas e veterinárias podem ser utilizadas para propósitos de rastreamento e saúde em avaliações de risco (EFSA, 2009). Dados de consumo também serão requeridos em outras regiões, e esforços são necessários para desenvolver a base de conhecimento para informar avaliações de risco.

Esta abordagem adiciona complexidade significativa e requer dados adicionais para informar a avaliação. Avaliações de risco em Saúde Unificada atravessam limites entre setores e populações e, como tais, necessitarão dados de entrada mais diversos. A falta de dados já impõe um desafio sério para questões de risco mais específicas. Uma fonte importante de dados de avaliação de risco e métodos de atribuição de fonte são os programas de vigilância, e, portanto, a demanda por vigilância provavelmente aumentará. O uso de vigilância projetada eficientemente através de setores de saúde

humana e animal é de suma importância (BENEDICTUS; HOGVEEN; BERENDS, 2009). Aspectos econômicos precisam ser integrados no planejamento de vigilância. Häsler *et al.* (2011) (HÄSLER; HOWE; STÄRK, 2011) sugerem que ao visar a mitigação de riscos (por exemplo, eliminação de um certo perigo alimentar de uma população pecuária), tanto custos e benefícios de intervenções quanto atividades de vigilância relacionadas precisam ser consideradas conjuntamente para estabelecer o valor total de um programa. Este conceito está sendo expandido para abordar aspectos econômicos em um contexto de Saúde Unificada (BABO MARTINS; RUSHTON; STÄRK, 2017). Nesta abordagem, dependendo do caráter do perigo (por exemplo, emergente ou endêmico), informações coletadas de populações animais podem informar intervenções para saúde pública e alcançar benefícios econômicos que estão distantes da intervenção original.

Em nível internacional, houve um forte encorajamento para integrar atividades de vigilância ao longo da cadeia alimentar para fazer uso ótimo da informação coletada em todas as populações relevantes para informar intervenções tanto para saúde animal como pública. A OIE dedicou uma edição do seu periódico para esse tópico (OIE, 2012). Um exemplo excelente ilustrando os benefícios de vigilância intersetorial em um contexto de Saúde Unificada é o Programa Integrado Canadense para Vigilância de Resistência a Antimicrobianos (CIPARS) (ZINSSTAG *et al.*, 2011). Integrar atividades de vigilância em todos os setores tem vantagens bem claras incluindo comunicação mais rápida, protocolos padronizados e poupança financeira através do aumento da eficiência do trabalho laboratorial.

A estrutura da análise de risco foi recentemente revista em geral, e a evolução sugerida é relevante para avaliações de risco em Saúde Unificada. O relatório publicado pelo Conselho das Academias Canadenses (2011) recomendou que a análise de risco deve se tornar uma abordagem mais multidimensional e integrada. Isto significa que uma gama muito mais ampla de consequências deve ser considerada, incluindo consequências ecológicas. Isto indica uma necessidade de integração formal de uma abordagem de Saúde Unificada. Além disso, uma gama muito mais ampla de gestores deve ser consultada durante o processo da análise de risco.

#### **2.4 Métodos e modelos de atribuição de fontes**

Segundo Pires (2009), o particionamento da carga de enfermidades humanas transmitidas por alimentos a fontes específicas, como reservatórios animais e veículos

de transmissão como alimentos, é denominado atribuição de fontes. Uma variedade de fontes de dados e abordagens analíticas pode ser utilizada para atribuir doenças transmitidas por alimentos a fontes animais ou alimentares (BATZ et al., 2005; PIRES, 2009):

- Abordagens epidemiológicas: análises de estudos de caso-controle e análise de dados de surtos;
- Abordagens microbiológicas: subtipagem microbiana e avaliação de exposição comparativa;
- Estudos intervencionais;
- Elicitação de especialistas.

Os métodos possuem diferentes vantagens e limitações e devem estar em consonância com a questão de saúde pública e a disponibilidade de dados, os quais podem informar a respeito de diferentes pontos da cadeia de produção e consumo. Por meio de subtipagem em reservatórios, como monitoramentos frequentes ou exploratórios do Ministério da Agricultura em que há utilização de ribotipagem molecular, é possível atribuir sorovares de salmonelose a diferentes espécies de produção e direcionar esforços em estratégias de controle. Em contrapartida, tal método demanda uma coleta intensiva de dados de uma parcela representativa dos reservatórios principais e, ainda, não há informação das diferentes rotas de transmissão. A abordagem reduz o risco de atribuição a fontes “acidentais” devido à incerteza resultante de contaminações cruzadas ao identificar as fontes primárias de patógenos comumente transmitidos por alimentos pela comparação dos diferentes sorovares com a casuística em humanos.

Para estimar a contribuição relativa de cada rota de transmissão de uma única fonte, a avaliação de exposição comparativa pode ser utilizada (PIRES, 2009). Esta pode ser limitada de acordo com a quantidade de dados, resultando em grandes incertezas em torno das estimativas. Estudos epidemiológicos focam na doença após o consumo e as exposições em comum aos casos, possibilitando a identificação de fatores de risco, como fontes de exposição, pré-disposições e fatores comportamentais (POWELL; JACOB; CHAPMAN, 2011) ou sazonais. Por meio de revisão sistemática e metanálise de estudos, pode-se fornecer uma perspectiva de fatores de risco e exposição, detectando variações ou tendências temporais e geográficas (DOMINGUES et al., 2012). Entretanto, é necessária uma quantidade considerável de casos para

determinar, com poder estatístico, a importância de fontes de exposição em comum, e os casos podem refletir uma mistura de possíveis fontes de exposição, sendo difícil a distinção entre elas. A má classificação das exposições ou a falta de acurácia dos registros podem levar a subestimações da carga de casos atribuídos às fontes específicas.

A documentação clara de que um patógeno específico foi transmitido por um alimento específico, capturando o efeito da contaminação em múltiplos pontos da cadeia de produção ao consumo é uma vantagem da análise de dados de surtos. Uma extensa gama de veículos alimentares é representada, inclusive itens incomuns, e, comumente, tais dados são a fonte de informação mais acessível para atribuição de fontes. Surtos de grande magnitude, ou associados a fontes pontuais, ou que apresentam períodos de incubação curtos ou sintomatologias graves são mais propensos a serem investigados. Desta maneira, as faltas de harmonização nos esquemas de classificação dos dados e de representatividade das diferentes fontes investigadas, bem como a probabilidade de alimentos gerarem um surto, podem levar a estimativas enviesadas.

Estudos intervencionais podem fornecer evidências do impacto de uma doença transmitida por alimentos atribuível a fontes específicas. Os estudos intervencionais podem ser planejados em pequena ou grande escala para controlar um patógeno específico, e a medida do impacto de fontes específicas na doença humana é facilitada quando as intervenções são conduzidas de maneira randomizada (SEARS et al., 2011). Além das intervenções implementadas, experimentos naturais ou intervenções acidentais, em que uma mudança na exposição ou comportamento de consumo da população resultou em uma diminuição no número de casos de doença relatados, provaram ser úteis para avaliar a contribuição de fontes específicas para o ônus da doença (PIRES, 2009).

Quando os dados necessários para uma abordagem estatística baseada em dados (*data-driven*) são muito incertos ou indisponíveis, ou quando há a necessidade de preencher lacunas de dados ou combinar resultados conflitantes de outros estudos ou abordagens, pode se lançar mão da elicitación de especialistas (por exemplo, Hoffman *et al.*, 2007, para *Salmonella*) (HOFFMANN et al., 2007). Este tipo de estudo é particularmente útil para estimar a proporção de casos humanos que são atribuíveis a cada uma das principais rotas de transmissão: alimentar ou hídrica, ambientais, por contato direto ou de pessoa-a-pessoa. Conclusões serão baseadas nos julgamentos e

análises críticas individuais dos especialistas, os quais podem ser desinformados ou tendenciosos, mas podem abranger todas as rotas de transmissão possíveis.

#### 2.4.1 Abordagens epidemiológicas

Abordagens epidemiológicas para atribuição de fontes incluem análise de casos esporádicos e análise de dados de investigações de surtos. Elas envolvem entrevistas de pacientes para esclarecer a lembrança dos alimentos consumidos ou outras exposições pregressas à manifestação dos sintomas. Uma abordagem sistemática à pesquisa epidemiológica de campo foi provavelmente delineada pela primeira vez por Hipócrates há 2500 anos. Ele foi um dos primeiros epidemiologistas e uma das primeiras pessoas a aplicar abordagens ecológicas a problemas médicos da população (SCHWABE, 1969). Hipócrates estava preocupado com uma das atividades mais fascinantes que o homem encontrou para se envolver – o estudo da história natural ou ecologia das doenças. Este filósofo grego tinha em mente que para investigar a medicina apropriadamente era necessário considerar em uma determinada localidade desde fenômenos climáticos diários, como os ventos e a incidência solar, contemplando a qualidade da água e dos solos, até o modo de vida da população, por exemplo, se ela come e bebe em excesso, ou se sofre de indolência ou é disposta ao exercício e ao trabalho.

Por natureza, a medicina veterinária é um campo ecológico. Por estar em boa posição, na “interface zoonótica”, com sua atenção pode-se fazer observações fundamentais sobre o comportamento das doenças. Assim como em outras disciplinas, abordagens lógicas e sistemáticas a problemas têm evoluído em epidemiologia no decorrer dos anos. Em alguns eventos de enfermidades, tais como surtos alimentares, os principais padrões de um surto para o próximo são geralmente tão similares que um protocolo padronizado razoável para investigação tem emergido (SCHWABE, 1969). Geralmente, casos de DTA são classificados como esporádicos ou relacionados a surtos. Um surto é definido como uma incidência, observada sob dadas circunstâncias, de dois ou mais casos humanos da mesma doença, ou uma situação em que o número observado de casos excede o número esperado e onde os casos estão provavelmente conectados a mesma fonte alimentar. Casos esporádicos são aqueles que não foram associados a nenhum surto conhecido. Neste contexto, uma parcela desconhecida de casos classificados como esporádicos podem compor surtos não detectados. Por meio de estudos analíticos epidemiológicos é possível identificar fontes prováveis de infecções aparentemente esporádicas e surtos, seja por entrevistas de pacientes (casos) e

assintomáticos (controles), seja por estudos de casos em série com entrevistas de indivíduos adoecidos.

No procedimento geral de estudos epidemiológicos de ocorrência de enfermidades em uma população, o primeiro passo é descritivo. Quando todas as evidências disponíveis tiverem sido registradas, estas são analisadas e uma tentativa é realizada para deduzir associações possíveis por meio de hipóteses das explicações mais prováveis. Este passo analítico da investigação epidemiológica é análogo ao diagnóstico diferencial da medicina clínica. Existem essencialmente dois tipos de investigação: de surtos ou epidemias de doenças, ou como forma de pesquisa da história natural da doença. Uma análise da informação disponível de investigações de surto pode ser utilizada para atribuição de fontes. Muitas investigações de surto são exitosas em identificar a fonte específica das infecções humanas. Ao conduzir uma análise de dados de investigações de surto, os veículos alimentares mais comuns em surtos podem ser identificados. Uma simples análise descritiva ou um sumário das investigações de surto é útil para atribuir doenças a alimentos, mas por vezes o alimento incriminado é “complexo”, contendo diversos itens alimentares que podem ser fonte de infecção (PIRES et al., 2010).

A fonte primária de informação do campo é o próprio investigador ou sua equipe. A plenitude da evidência coletada no campo quase sempre depende apenas do poder de observação do investigador. Onde quer que seja apropriado, todas as pessoas doentes devem ser clinicamente avaliadas a fim de se chegar a um diagnóstico clínico da doença (SCHWABE, 1969). O segundo estágio da investigação epidemiológica é a formulação de hipóteses. Esse processo se dá a partir dos fatos obtidos na fase descritiva do estudo, em que hipóteses de causalidade, associação, modo de transmissão, ou qualquer outra possibilidade são formuladas, dependendo da proposta da investigação. As possibilidades são, então, arranjadas em ordem decrescente de probabilidade.

A maioria dos cientistas visa explicar os fatos, propondo hipóteses além dos fatos e delimitando tentativas de refutá-las ou estabelecê-las por estudos analíticos ou experimentais. Esta é uma parte essencial da investigação epidemiológica. Entretanto, deve-se tomar cuidado para não confundir hipóteses com fatos, e se pautar além das evidências para confirmá-las.

#### 2.4.1.1 Investigação de Surto

Uma porção considerável do tempo de epidemiologistas do departamento de saúde (ex. Vigilância Epidemiológica de Doenças Transmitidas por Alimentos da Secretaria de Saúde) é gasto em investigações de surtos de doenças, sendo a maioria classificada como de fonte comum (epidemias focais). A fase descritiva contempla: (a) a verificação do diagnóstico clínico, se possível; (b) a comparação do número de casos com o número normalmente esperado, para comprovar a existência de uma epidemia; (c) o delineamento do grupo envolvido; e, por fim, (d) a tentativa de identificar o evento que constituiu a exposição comum (SCHWABE, 1969). Este último passo se dá por meio de: (a) da coleta de históricos individuais para classificação dos expostos quanto a exposição ao veículo específico em potencial; manifestação ou não da doença; e quadro clínico, como o tempo de manifestação da doença e espécimes para análise laboratorial; (b) da investigação da fonte e do método de preparo com a preservação dos alimentos suspeitos e coleta de amostras quando disponível; (c) do estudo de condições ambientais como o armazenamento de água, de eventos incomuns e coleta de espécimes e amostras; e (d) da busca por fontes humanas e animais.

A fase analítica, por sua vez, visa o processamento dos dados coletados: (a) pela distribuição temporal; (b) pela distribuição geográfica; (c) pelas características dos hospedeiros, tais como idade, gênero, raça, etc.; (d) e pelo cálculo de taxas de ataque entre expostos e não expostos a cada veículo suspeito. A seguir são levantadas hipóteses, tomadas conclusões e formuladas recomendações. Tomando como exemplo as doenças transmitidas por alimento (DTA), a determinação do número de doenças vinculadas a um patógeno específico associado com uma *commodity* alimentar particular requer uma medida de atribuição. O uso de dados de surtos para atribuição de DTA em humanos tem sido descrito anteriormente (ADAK et al., 2005; GREIG; RAVEL, 2009; PIRES et al., 2012, 2010).

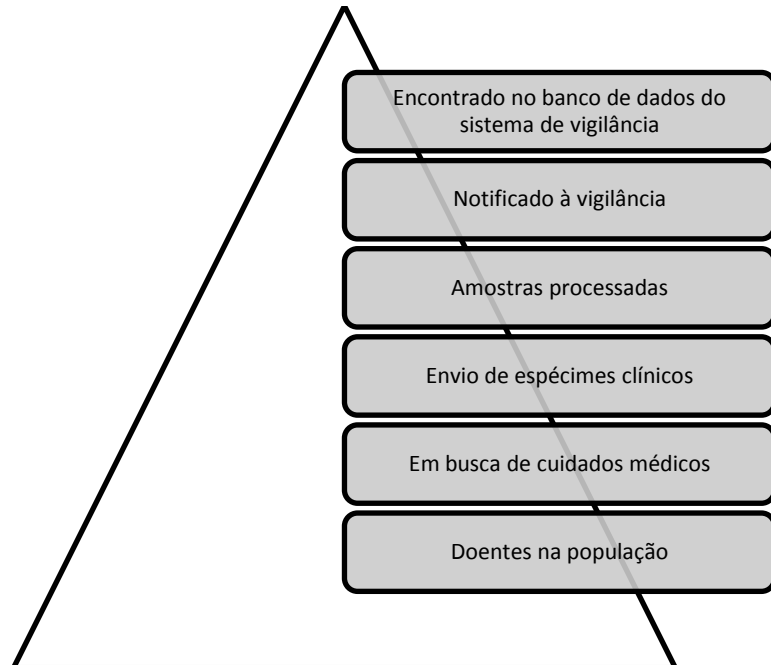
Os estudos analisaram o número de surtos alimentares relatados e casos relacionados a surtos associados com uma grande variedade de agentes etiológicos. Investigações de surtos têm provado ser um meio crítico de identificar novos agentes e veículos, bem como têm mantido o alerta a problemas contemporâneos, como infecções por *Salmonella* spp. Ao contrário de dados de vigilância de doenças esporádicas, dados de investigações de surtos alimentares são frequentemente disponíveis, tanto em países desenvolvidos como aqueles em desenvolvimento. Um resumo simples dos resultados das investigações de surtos pode ser útil para a identificação dos veículos alimentares

mais comuns envolvidos nos surtos e das fontes mais importantes relatadas nas doenças humanas (EUROSURVEILLANCE EDITORIAL TEAM, 2012). Autoridades governamentais de segurança de alimentos geralmente pautam-se em estimativas de atribuição derivadas de investigações de surtos de DTAs anualmente. Tais investigações podem resultar na implicação da fonte alimentar mais provável de um surto. Os surtos em um dado ano atribuídos a uma *commodity* alimentar particular representam apenas uma fração de todas as doenças transmitidas por alimentos associadas com a *commodity* (PAINTER et al., 2013).

Um dos principais empecilhos para a avaliação dos números reportados pelas investigações de surtos é a alta taxa de subnotificação, a qual ocorre em todas as etapas da pirâmide de notificação (Figura 4) (WHEELER et al., 1999). Nesta pirâmide, o número real de casos na população é representado na base e é geralmente desconhecido. Já o número de casos reportados ao sistema de vigilância é representado no topo da pirâmide. A diferença entre os dois é explicada por 1) o percentual de casos que buscam atendimento médico; 2) o percentual daqueles que são solicitados a submeter espécimes clínicos e o fazem mesmo; 3) o percentual de espécimes que são analisados; 4) a sensibilidade dos testes laboratoriais utilizados; 5) o percentual de resultados positivos que são reportados; e 6) o percentual de registros no sistema de notificação que possui dados completos e válidos. De maneira geral, se aceita que o número de casos encontrados no topo da pirâmide é menor que o encontrado na base, e, assim, o verdadeiro impacto de salmonelose humana e demais infecções gastrintestinais pode ser consideravelmente maior que a incidência reportada (AMATO-GAUCI; AMMON, 2008; DE JONG; EKDAHL, 2006).



**Figura 4** – Pirâmide de subnotificação mostrando as etapas em que casos presentes na população são perdidos pelo sistema de vigilância



Fonte: adaptado de WHEELER *et al.* (1999)

#### 2.4.2 A abordagem de subtipificação microbiana

A disponibilidade e a qualidade dos dados são os principais fatores que orientam a escolha dos métodos de atribuição de origem e, sem dúvida, a relevância dos resultados. Inferir probabilisticamente sobre as fontes mais prováveis de casos humanos com base em dados de subtipagem é exigente em termos de requisitos de dados e capacidade computacional. Para além de grandes conjuntos de dados tipificados por estirpe para um vasto painel de fontes potenciais representativas da situação epidemiológica em questão, pode ser necessário incluir outros dados sobre, por exemplo, o nível de contaminação das fontes e o consumo de alimentos. Portanto, a aplicação abrangente de abordagens microbiológicas à atribuição de fonte é frequentemente condicionada a sistemas de vigilância bem estabelecidos, dados auxiliares detalhados para enquadrar o contexto epidemiológico específico e a aplicação sistemática e harmonizada de métodos de subtipagem. Isso requer a inclusão da atribuição de fontes como um objetivo dos sistemas de vigilância para gerar dados otimizados para essa finalidade. No entanto, estudos que fornecem indicações sobre o

tamanho ideal da amostra para abordar o poder estatístico e a diversidade de esforços na atribuição de fontes são escassos (SMID et al., 2013).

A caracterização de subtipos de *Salmonella* spp. pode ser realizada através de abordagens fenotípicas (sorotipagem, fagotipagem e caracterização dos perfis de resistência antimicrobiana) ou genotípicas. Sorotipagem por aglutinação em lâmina é amplamente utilizada para categorizar patógenos bacterianos e o esquema de Kauffman-White para o gênero *Salmonella* é realizado com base na reatividade imunológico e determinante antigênico presentes na superfície celular, tais como os antígenos O de membrana, K de cápsula e H de flagelo (BRUL; FRATAMICO; MCMEEKIN, 2011; HEYNDRICKX et al., 2005). A harmonização deste esquema de sorotipificação permite que os resultados sejam comparáveis no mundo inteiro e consiste no método de caracterização primário de *Salmonella* spp. (BAGGESEN et al., 2010), gerando uma lista de mais de 2.500 sorovares, dos quais cerca de 60% são subtipos de *S. enterica enterica* (GRIMONT; WEILL, 2007). É possível caracterizar isolados de *Salmonella* spp. com base na sua suscetibilidade a um painel de vírus bacteriófagos específico (GEBREYES; ALTIER; THAKUR, 2006). Este método é útil para subtipificar mais especificamente isolados já sorotipificados e tradicionalmente é realizado durante investigações de surtos por sorovares de maior importância em humanos (*S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*), proporcionando uma maior discriminação que a sorotipificação e melhorando a detecção de associações específicas entre subtipos e fontes de hospedeiros ou alimentos (BAGGESEN et al., 2010; HENDRIKSEN et al., 2011; MØLBAK; NEIMANN, 2002). Perfis de resistência a antimicrobianos também podem ser utilizados para subtipificar microorganismos com base na sua resistência a um painel de diferentes classes de antimicrobianos, permitindo a identificação de cepas emergentes (GEBREYES; THAKUR, 2011).

Variações das abordagens fenotípicas de subtipificação microbianas têm sido utilizadas para *Salmonella* spp. na Holanda (VALKENBURGH et al., 2007; VAN PELT et al., 1999), Dinamarca (HALD et al., 2004; PIRES; HALD, 2010), Japão (TOYOFUKU; PIRES; HALD, 2011), Suécia (WAHLSTRÖM et al., 2011), Estados Unidos (AHLSTROM et al., 2017; GUO et al., 2011), Nova Zelândia (MULLNER et al., 2009a) e França (DAVID et al., 2013b). Por meio de modelagem determinística (modelo holandês, por van Pelt *et al.*, 1999 (VAN PELT et al., 1999) ou estocástica (modelo dinamarquês, por Hald *et al.*, 2004; adaptado no Japão, Suécia e Estados Unidos) é realizada a comparação do número de casos humanos reportados por um

sorovar com a ocorrência relativa deste mesmo sorovar nas fontes de animais de produção. O modelo holandês assume que o impacto de cada fonte é o mesmo dentre os mesmos sorovares, e que uma fonte com uma ocorrência relativa alta de um sorovar irá necessariamente resultar em mais casos, não levando em conta que certos alimentos são tradicionalmente preparados de maneira que influenciam a sobrevivência de uma carga bacteriana. A saber, uma baixa prevalência de *S. Enteritidis* em ovos comumente gera mais casos de salmonelose humana do que uma alta prevalência em frangos, pois ovos são tradicionalmente consumidos crus ou levemente cozidos. Esta particularidade é considerada no modelo dinamarquês.

A relevância das atribuições baseadas em métodos microbiológicos depende também do número de fontes consideradas, que precisam ser tão completas e representativas quanto possível. A omissão de fontes de relevância epidemiológica pode afetar seriamente as atribuições. Uma característica dos modelos de correspondência de frequência é que eles não permitem atribuir subtipos identificados apenas em humanos, gerando assim uma fração de casos não atribuíveis. No entanto, casos humanos relacionados a fontes que não estão incluídas no modelo, mas estão infectados com subtipos presentes também em outras fontes incluídas no modelo, serão erroneamente atribuídos a estas últimas fontes. Foi demonstrado que a inclusão de fontes consideradas de menor importância levou à reassignação de 25% dos casos inicialmente atribuídos a fontes conhecidas de *Salmonella* spp. (DAVID et al., 2013a). O painel de fontes potenciais incluídas na análise é particularmente importante para modelos genéticos de populações, já que nenhuma fração não atribuível é contemplada. A não omissão de fontes relevantes também é relevante quando existem fontes importantes não alimentares, como ilustrado para a disseminação mediada pelo ambiente de *Campylobacter* (FRIESEMA et al., 2012; MUGHINI-GRAS et al., 2016) e salmonelose (MUGHINI-GRAS; HECK; VAN PELT, 2016) e campilobacteriose associados a animais de estimação (MUGHINI-GRAS et al., 2013). No entanto, essas fontes não alimentares geralmente não são monitoradas pelos sistemas de vigilância. Além disso, a atribuição de fontes com base na subtipagem microbiana muitas vezes sofre de séries temporais incompletas para todas as fontes relevantes. Isso dificulta a avaliação das tendências nas contribuições relativas de diferentes fontes e a documentação do impacto das intervenções, mesmo que os métodos que tentam abordar isso tenham sido propostos (RANTA et al., 2011).

A contabilização das características biológicas das diferentes cepas continua sendo um desafio para modelos baseados em métodos microbiológicos, assim como na QRA. Além disso, esses modelos frequentemente assumem que as diferentes linhagens e fontes são entidades independentes, enquanto existem interações biológicas entre elas. Recentemente, um novo modelo de atribuição de origem, chamado sourceR, foi proposto (MILLER et al., 2017). Este modelo baseia-se e combina as propriedades dos modelos dinamarqueses originais (HALD et al., 2004) e modificados (MULLNER et al., 2009a), usando dados de vigilância molecular para determinar a força de infecção de cada fonte, permitindo variabilidade de sobrevivência/patogenicidade de cepas e habilidades variadas de fontes para atuar como veículos (MILLER et al., 2017). Uma abordagem não paramétrica bayesiana é usada para agrupar cepas por comportamento epidemiológico, evitando que o modelo seja *overfitting* e permitindo a detecção de cepas “altamente virulentas” (MILLER et al., 2017). Esta é uma melhoria significativa em relação aos modelos anteriores que se basearam em várias adaptações para melhorar a identificabilidade, como a fixação de alguns parâmetros *a priori* (HALD et al., 2004), modelando-os hierarquicamente como efeitos aleatórios (MULLNER et al., 2009a), ou relacionados a uma fonte única usando valores baseados em dados (DAVID et al., 2013b). Desenvolvimentos futuros terão que se concentrar na modelagem de efeitos espaço-temporais para identificar, por exemplo, focos de contaminação de origem no tempo e no espaço, particularmente para patógenos que evoluem rapidamente ao longo do tempo e são altamente diversificados nas regiões (MILLER et al., 2017). Além disso, incluir interações entre tipos e fontes permitiria que certos tipos fossem diferencialmente prováveis de causar doenças dependendo da fonte em que aparecem (MILLER et al., 2017). Há também uma necessidade de considerar a multidirecionalidade na transmissão de e para as fontes e dentro da própria população humana, já que este é um fator limitante para a atribuição de microorganismos de origem para os quais os seres humanos podem ser tanto alvos quanto fontes. Este poderia ser o caso de, por exemplo, *Shigella*, *Cryptosporidium* ou bactérias produtoras de Beta-Lactamase de Amplo Espectro (do inglês, *extended-spectrum beta-lactamases*, ESBL).

O desenvolvimento de novos modelos de atribuição de fontes deve ir em paralelo com o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico de modelo e validação cruzada empírica, semelhante à validação tradicional baseada na auto-atribuição (KITTL et al., 2013; MUGHINI-GRAS et al., 2014b; SHEPPARD et al., 2009). Além

disso, dificuldades em identificar um modelo que satisfaça todas as necessidades devem levar à aplicação rotineira de diferentes modelos de forma comparativa, incluindo índices de proximidade genética e diversidade (por exemplo, índice de diversidade de Simpson e análise de variância molecular) (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005; KITTL et al., 2013; ROUX et al., 2013; STRACHAN et al., 2009) e abordagens filogenéticas (DIDELOT; FALUSH, 2007; MUGHINI-GRAS et al., 2014b; ROUX et al., 2013; STRACHAN et al., 2009) para complementar a atribuição de fontes (DEARLOVE et al., 2016). Comparação com abordagens epidemiológicas (ROUX et al., 2013) ou diferentes modelos de genética populacional (DALE et al., 2011) também estão disponíveis. Obviamente, o uso de novos modelos requer a avaliação de mudanças nas tendências de atribuições, a fim de verificar se elas refletem mudanças reais na epidemiologia desses patógenos ou artefatos dos diferentes métodos utilizados (MUGHINI-GRAS; FRANZ; VAN PELT, 2018).

Com o aumento do interesse na atribuição de fonte de patógenos veiculados por alimentos, os métodos atuais precisam ser sistematicamente classificados e possivelmente combinados ou aplicados de forma comparativa, respondendo por fatores como o tipo, qualidade e completude dos dados disponíveis, requisitos analíticos, ponto de atribuição, características do patógeno e contextos epidemiológicos. À medida que esse campo evolui, vários gargalos metodológicos terão que ser enfrentados, incluindo a análise de dados de alta produtividade cada vez mais disponíveis, processos espaço-temporais e multidirecionais e as propriedades diferenciais a serem determinadas (patogenicidade e comportamento) de cepas de patógenos em interação com as fontes.

#### 2.4.2.1 Inferência Bayesiana

Existem duas abordagens diferentes para a inferência estatística, as quais têm diferentes concepções e bases filosóficas e podem levar a resultados distintos (DOHOO; MARTIN; STRYHN, 2009), as inferências frequentista e Bayesiana. Uma maneira de introduzir incerteza no processo de estimação de parâmetros para modelos de risco é aplicar inferência Bayesiana, que deve seu nome ao papel fundamental do uso do teorema de Bayes. Na lógica Bayesiana, incertezas são atribuídas aos parâmetros, modelados por distribuições, enquanto os dados amostrados são mantidos como quantidades fixas uma vez coletados. Antes da coleta de qualquer dado, o conhecimento sobre os parâmetros desconhecidos de um problema é expresso na distribuição *a priori* para os parâmetros. Assim que coletados os dados, constrói-se uma função de

verossimilhança apropriada, a qual calcula a probabilidade de observar os dados atuais para um dado valor do parâmetro desconhecido e então se combina a distribuição *a priori* e a informação dos dados. O resultante é a distribuição *a posteriori* para os parâmetros, a qual resume o conhecimento a respeito dos parâmetros depois de observar os dados. As principais diferenças entre as inferências clássica e Bayesiana estão apresentadas na Tabela 1. A análise Bayesiana tem ganhado popularidade recentemente, e tem sido aplicada a problemas complexos em epidemiologia veterinária como modelos de atribuição de fonte (HALD et al., 2004), comparação de testes diagnósticos sem padrão-ouro (BRANSCUM; GARDNER; JOHNSON, 2005), e na análise de dados hierárquicos (DOHOO et al., 2001).

**Tabela 1** – Comparação da estatística das abordagens clássica e Bayesiana

Conceito	Abordagem	
	Clássica	Bayesiana
Parâmetro	Constante fixa (desconhecido)	Quantidade aleatória não observável
Informação prévia dos parâmetros	Nenhum	Distribuição <i>a priori</i>
Base da inferência	Função de verossimilhança	Distribuição <i>a posteriori</i>
Estimativa pontual	Estimativa baseada apenas na amostra (ex., de máxima verossimilhança)	Estatística da distribuição <i>a posteriori</i> (ex., média, mediana e moda)
Estimativa intervalar	Intervalo de confiança	Intervalo de credibilidade
Teste de hipótese/ Comparação de modelos	Teste (ex., da razão de verossimilhança) / critério (ex., <i>Akaike's Information Criteria</i> )	Fator de Bayes/ critério (ex., <i>Deviance Information Criteria</i> )

Fonte: DOHOO, MARTIN e STRYHN (2009, p. 639, tradução nossa).

Muitas vezes desejamos encontrar um intervalo de alta probabilidade para o parâmetro. Um intervalo de valores que tem uma alta probabilidade *a posteriori* conhecida ( $1 - \alpha$ ) de conter o parâmetro é conhecido como um intervalo de credibilidade Bayesiano. Existem muitos intervalos possíveis com a mesma probabilidade (*a posteriori*). O menor intervalo com dada probabilidade é o preferido. Ele seria encontrado tendo as densidades iguais *a posteriori* nos limites inferior e superior, juntamente com uma área total da cauda de  $1 - \alpha$ . As caudas superior e inferior não teriam necessariamente áreas de cauda iguais. No entanto, muitas vezes é mais fácil dividir a área total da cauda em partes iguais e encontrar o intervalo com áreas de cauda iguais (BOLSTAD, 2007).

Comparando intervalos de confiança e credibilidade, para uma proporção, por exemplo, há um contraste na interpretação do grau de crença, em termos de probabilidade direta. Os cálculos de probabilidade para o intervalo de confiança são baseados na distribuição amostral da estatística. Em outras palavras, como isso varia em todas as amostras possíveis, conseqüentemente, as probabilidades são *pré-dados*. Elas não dependem da amostra particular que ocorreu. Já o intervalo de credibilidade Bayesiano calculado a partir da distribuição *a posteriori* é condicionado aos dados de amostra observados. O intervalo de credibilidade Bayesiano resume nossa crença sobre os valores dos parâmetros que poderiam ser acreditados com credibilidade, visto os dados observados que ocorreram. Em outras palavras, são *pós-dados*. Não há preocupação com os dados que poderiam ter ocorrido, mas não ocorreram (BOLSTAD, 2007).

Os modelos de atribuição de fontes por compatibilidade de frequências, tais como o holandês e o dinamarquês baseam-se na correspondência de subtipos microbianos entre humanos e fontes. Baseado no princípio de comparação do número de casos humanos notificados, causados por um subtipo bacteriano particular (sorovar de *Salmonella*), com a ocorrência relativa deste subtipo em cada fonte, o número de casos notificados por subtipo *i* atribuído pelo modelo à fonte *j* foi definido pela seguinte equação:

$$\lambda_{ij} = \frac{p_{ij}}{\sum_j p_{ij}} x_i$$

onde  $\lambda_{ij}$  foi o número de casos esperado por ano do subtipo *i* da fonte *j* relacionado com  $p_{ij}$ , a proporção do subtipo *i* de *Salmonella* na fonte *j* entre todas as fontes amostradas,  $\sum_j p_{ij}$ , a proporção do subtipo de *Salmonella* *i* entre todas as fontes amostradas, e  $x_i$ , o número observado de casos humanos do subtipo *i* por ano (VAN PELT et al., 1999).

O modelo holandês, embora sendo simples de calcular, presume que todos os subtipos de *Salmonella* spp. têm a mesma virulência e todas as fontes têm a mesma probabilidade de causar doença em humanos. Do contrário, é reconhecido que diferentes subtipos de *Salmonella* spp. possuem diferentes probabilidades de causar doenças em humanos com distintos graus de severidade (EUROSURVEILLANCE EDITORIAL TEAM, 2012). Além disso, alimentos possuem diferentes propriedades físicas, como pH e atividade de água, e podem servir como veículos para doenças transmitidas por alimentos de maneiras distintas, considerando-se também procedimentos de processamento e preparo particulares.

Ao incorporar fatores subtipo- e fonte-dependentes, por inferência Bayesiana, Hald *et al.* (HALD *et al.*, 2004) assumiram que o número de casos humanos por subtipo  $i$  segue uma distribuição de Poisson com número de casos esperado  $\lambda_i$  (parâmetro desconhecido) dada a equações:

$$\lambda_i = \lambda_i + t_i - o_i$$

$$\lambda_i = \sum_j \lambda_{ij}$$

$$\lambda_{ij} = M_j \cdot p_{ij} \cdot q_i \cdot a_j$$

onde  $\lambda_i$  é o número esperado de casos domésticos e esporádicos (não vinculados a surtos) do subtipo  $i$ ,  $t_i$ , o número de casos do subtipo  $i$  relacionados a viagens,  $o_i$ , o número de casos do subtipo  $i$  relacionados a surtos menos um pra cada surto (uma vez que assume-se que o caso índice de um surto foi um caso esporádico),  $\lambda_{ij}$ , o número esperado de casos esporádicos e domésticos por ano de subtipo  $i$  de *Salmonella* na fonte  $j$ ,  $p_{ij}$ , a prevalência do subtipo  $i$  na fonte  $j$ ,  $q_i$ , o fator sorotipo-dependente para o subtipo  $i$ ,  $a_j$  o fator fonte-dependente para fonte  $j$  e  $M_j$  o montante da fonte  $j$  disponível para consumo por ano.

#### 2.4.2.2 Inferência Bayesiana usando simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov

A probabilidade de ocorrência de um evento pode ser descrita por um modelo probabilístico. Classicamente, por meio de estatística frequentista, tais modelos contêm parâmetros considerados como quantidades fixas que necessitam ser estimadas (KING *et al.*, 2009). A abordagem clássica de estimar estes valores é formar uma verossimilhança, que é uma função dos parâmetros do modelo e dos dados amostrais coletados, e maximizar esta função para obter a estimativa de máxima verossimilhança. A inferência clássica trabalha com modelos probabilísticos com os dados observados dados os parâmetros, à medida que a inferência Bayesiana também considera o parâmetro visto os dados. Neste caso, os parâmetros do modelo são tratados da mesma maneira que os dados, em que são consideradas distribuições aos mesmos. Antes dos dados entrarem no modelo, tais distribuições são utilizadas como informação sobre os parâmetros e descritas como distribuições *a priori*. Ou seja, o valor de um parâmetro é considerado como apenas um valor possível deste parâmetro, com sua probabilidade sendo definida pela distribuição *a priori*. As ditribuições *a posteriori* dos parâmetros



podem então ser derivadas, levando em conta a informação *a priori* e os dados (KING et al., 2009; LAWSON, 2008).

A escolha da distribuição *a priori* dependerá do conhecimento prévio disponível e existem três modos de escolhê-la: subjetivamente, quando não há dados prévios disponíveis e o formato da distribuição e os parâmetros refletem a experiência pessoal e as premissas do pesquisador; objetivamente, quando há dados históricos da distribuição dos valores dos parâmetros a partir de experimentos prévios à pesquisa em si; e não informativamente, quando não há preferências sobre os valores para alguns parâmetros e se assume distribuições *a priori* com formato plano (*flat*), como as distribuições uniformes, as quais têm pouco impacto nas distribuições *a posteriori* em comparação com a verossimilhança dos dados (LAWSON, 2008). A escolha de uma distribuição *a priori* não informativa pode ser feita com algum entendimento da amplitude e comportamento do parâmetro, o que torna possível estimar valores os quais não possuem informação prévia disponível, mas que podem ser calculados relativamente uns aos outros. Por exemplo, tomando a seguinte situação, adaptado de DE KNEGT (2013):

- 50% de 60 gramas de ração de rato são inoculados com 10 unidades formadoras de colônia (UFCs) de *S. Enteritidis*. Este conjunto de ração será chamado A;
- 50% de 60 gramas de ração de rato idênticos ao conjunto A são inoculados com 10 UFCs de *S. Kentucky*. Este conjunto de ração será chamado B;
- O conjunto A é fornecido a um grupo de 100 ratos Wistar. Este grupo será chamado X;
- O conjunto B é fornecido a um grupo de 100 ratos Wistar idênticos ao grupo X. Este grupo será denominado Y;
- Assume-se que cada rato nos grupos X e Y consuma a mesma quantidade de alimento que os outros, e que todas os 60 gramas de cada conjunto foram consumidos;
- Supõe-se que todas as condições para ambos os grupos, exceto as diferenças observadas na exposição, eram idênticos;
- 20 ratos do grupo X adoecem;
- 80 ratos do grupo Y ficam doentes;

A situação mostra que algum fator de virulência (ou fatores) relacionado aos dois subtipos de *Salmonella* faz com que *S. Kentucky* seja mais capaz de causar doença

em uma população que *S. Enteritidis*. No entanto, embora esse fator possa ser conhecido em nível molecular, não é quantificável atualmente. O cenário do grupo A, no qual 60 gramas com 50% de contaminação por *S. Enteritidis* geraram 20 ratos doentes, e o cenário semelhante no grupo B pode ser escrito como:

$$\text{A) } 0,5 * 60 = 20 \text{ casos}$$

$$\text{B) } 0,5 * 60 = 80 \text{ casos}$$

Considerando que as duas operações parecem idênticas, mas produzem um número diferente de casos, o fator de virulência “*q*” deve ser inserido, para que eles façam sentido:

$$\text{A) } 0,5 * 60 * q_{\text{Enteritidis}} = 20 \text{ casos}$$

$$\text{B) } 0,5 * 60 * q_{\text{Kentucky}} = 80 \text{ casos}$$

Mesmo que não existam valores reais (mensuráveis) para  $q_{\text{Enteritidis}}$  e  $q_{\text{Kentucky}}$ , ou se eles representarem, na verdade, um grupo de fatores em vez de um, ainda é possível estima-los relativamente uns aos outros, assumindo um valor de 1 para  $q_{\text{Enteritidis}}$  e definindo “*q*” como distribuição uniforme variando de zero a 100. O valor para  $q_{\text{Kentucky}}$  será então estimado em relação a 1 com um valor máximo possível de 100, e espera-se que seja maior que  $q_{\text{Enteritidis}}$ , pois causa mais casos nas mesmas condições.

Como formas analíticas explícitas para distribuições *a posteriori* frequentemente não estão disponíveis, se lança mão do emprego de procedimentos de simulação que resultam em amostras destas distribuições. O processo de gerar amostras a partir de uma densidade de probabilidade como uma maneira de integra-las é conhecido como Integração de Monte Carlo. Esta é baseada na premissa que, se a densidade gera a amostra, a partir desta amostra é possível recriar a densidade (SMITH; GELFAND, 1992). Amostras derivadas de uma distribuição são utilizadas para construir um histograma, e a curva original pode ser aproximada a partir do formato do histograma. Os resultados do modelo são estatísticas resumidas da amostra gerada, e podem ser representadas por um histograma. A média ou a mediana *a posteriori* seriam bons candidatos (BOLSTAD, 2007).

A maneira mais comum de gerar amostras a partir da distribuição *a posteriori* para uma Integração de Monte Carlo é utilizando Cadeias de Markov, sequências

estocásticas de números em que cada valor na sequência depende apenas do anterior (GILKS; RICHARDSON; SPIEGELHALTER, 1996). Uma propriedade das Cadeias de Markov é que estas tenderão a convergir a uma distribuição estacionária depois de certo tempo. Então, ao assumir que a distribuição estacionária da cadeia é a mesma da distribuição *a posteriori* do modelo, o conjunto de valores gerado tenderá a convergir à forma geral e às especificações da distribuição *a posteriori* (KING et al., 2009). O processo é conhecido como simulações de Monte Carlo via Cadeias de Markov (MCMC), e a geração de cada novo valor da amostra é denominada de iteração.

Para construir um amostrador MCMC, a premissa que uma distribuição estacionária da cadeia é a distribuição *a posteriori* do modelo deve ser realizada. Para tal, o amostrador Gibbs, o qual é uma variação do algoritmo de rejeição Metropolis-Hastings, pode ser utilizado para definir a distribuição estacionária desejada e rejeitar valores gerados que não se adequem (GILKS; RICHARDSON; SPIEGELHALTER, 1996; KING et al., 2009). Dado o princípio pelo qual as Cadeias de Markov são criadas, cada valor gerado é estreitamente correlacionado àquele gerado imediatamente antes. Quando a correlação se torna muito forte, a cadeia pode se “dobrar de volta” e começar a gerar números que já haviam sido sorteados, e então a amostragem para de progredir. Para evitar que isto ocorra, é possível definir que certa quantidade de valores deva ser gerada e pré-selecionada, mas apenas dar o aceite final ao valor com o menor coeficiente de correlação em relação aos demais. Este método de “relaxamento” (*over-relaxation*) ajuda a manter a aleatoriedade da amostra, uma vez que permite a amostragem se mover da área da distribuição *a posteriori* que estava sendo amostrada para outra área (NEAL, 1998).

Quando a cadeia atinge a distribuição alvo é dito que o modelo convergiu. Considerando que a distribuição estacionária foi pré-definida, e que o amostrador que não permite valores sorteados de desviar das especificações escolhidas foi utilizado, é necessário reafirmar a aleatoriedade do processo. Isto é parcialmente atingido por meio de *over-relaxation*, mas principalmente por rodar simultaneamente mais de uma Cadeia de Markov, com valores iniciais localizados em diferentes pontos da distribuição. Como todas as cadeias possuem a mesma distribuição *a posteriori* definida como suas distribuições estacionárias, são esperadas que todas elas converjam para a mesma faixa de valores em algum momento. A convergência do modelo pode ser monitorada se observando que a variância entre as cadeias não deve ser maior que a variância dentro da própria cadeia, como descrito por Gelman e Rubin (1992) (GELMAN; RUBIN,

1992). As duas variâncias são comparadas para gerar o Fator de Redução de Escala Potencial (*Potential Scale Reduction Factor*, PSRF). Um PSRF perto de um indica que uma convergência aproximada foi atingida (VAN VALKENHOEF et al., 2012). Isto pode ser visualmente avaliado em um diagrama Brooks-Gelman-Rubin (BGR), onde o PSRF é plotado contra o número de iterações rodadas, ou em um gráfico de séries temporais, em que os valores gerados são plotados contra o número de iterações rodadas. Neste gráfico, linhas representando as cadeias devem se sobrepor e estarem estáveis para se considerar que houve convergência. Em ambos os gráficos, a avaliação de quantas cadeias se sobrepueram ou quão estáveis elas estiveram é um tanto subjetiva e então não é possível afirmar que um modelo convergiu com certeza. Entretanto, situações em que a convergência certamente não ocorreu são mais claramente identificadas, uma vez que cada cadeia se encontra em diferentes áreas do gráfico, ou se move abruptamente entre uma ampla faixa de valores.

#### 2.4.2.3 O modelo de atribuição dinamarquês

O Instituto Nacional de Alimentos da Universidade Técnica da Dinamarca (DTU – Food) aplica anualmente o modelo de atribuição de fontes para estimar a contribuição das principais fontes de animais de produção às salmoneloses humanas. Primeiramente determinístico em 1995, o modelo se tornou estocástico sob uma estrutura Bayesiana (HALD et al., 2004), e comporta três dimensões desde 2010, a saber, o subtipo de *Salmonella*, a fonte animal de produção, incluindo alimentos importados, e o ano. Mesmo com um poder discriminatório menor (apenas sorotipificação como método marcador epidemiológico), tais modificações deixaram o modelo robusto e acurado sem comprometer a comparabilidade entre resultados de anos anteriores (PIRES; HALD, 2010). Casos esporádicos são atribuídos as principais fontes de animais de produção, a surtos e a viagens internacionais (casos em que houve viagem ao exterior em até uma semana antes dos sintomas). Uma proporção dos casos não pode ser assimilada a nenhuma fonte conhecida e é compilada na categoria de fontes desconhecidas, incluindo casos por subtipos não encontrados em nenhuma das fontes incluídas ou por isolados não subtipificados.

Casos humanos por determinado subtipo são atribuídos a fontes animais baseados na ocorrência relativa (representada pela prevalência) deste subtipo nas fontes animais incluídas no modelo. Dois parâmetros são considerados no modelo para quantificar a capacidade de um subtipo de causar enfermidade e a habilidade de uma

fonte de transmitir uma carga bacteriana ao consumidor humano. Estas características entram no modelo sem conhecimento prévio (distribuições de probabilidade não informativas, *flat priors*), e este conhecimento é atualizado por inferência Bayesiana com base dos dados disponíveis para informar o modelo. Os dados consistem no número de casos reportados causados por subtipos de *Salmonella* e a prevalência destes subtipos nas fontes animais/alimentares ponderados pela quantidade de fontes alimentares disponíveis para consumo na região.

### 3 METODOLOGIA

Dois métodos foram aplicados para a atribuição de fontes de salmonelose humana a fontes específicas, conforme disponibilidade de dados: O modelo de sorotipificação microbiana e o modelo de análise de surtos. A Tabela 2 resume as principais diferenças entre os dois modelos.

**Tabela 2** – Ponto de atribuição, locais, desfechos, e fontes incluídas nas abordagens de atribuição de fontes implementadas para a atribuição de salmonelose humana no RS.

<b>Método</b>	<b>Tipagem microbiana</b>	<b>Análise de surtos</b>
Ponto de atribuição	Reservatório (origem)	Exposição (consumo)
Período	2005-2015	2006-2015
Fontes	Alimentos de origem animal	Alimentos em geral/fontes não atribuíveis
Desfecho	Proporção de casos atribuída à origem animal (%)	Proporção de surtos atribuída às diferentes fontes alimentares (%)

Fonte: o próprio autor.

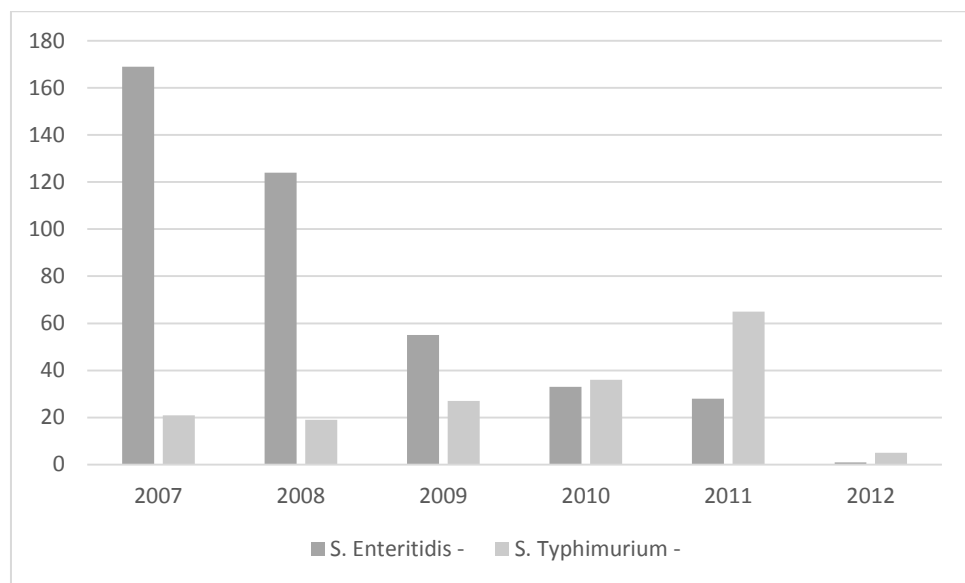
#### 3.1 Vigilância de salmonelose em humanos, alimentos e animais no Rio Grande do Sul

Foi feita a tabulação de dados de notificação de surtos de DTA no período de 1999 a 2015, com dados de sorotificação disponibilizados apenas a partir de 2005; bem como de dados originários de prontuários de hospitais vinculados ao GSS, disponíveis de 2011 a 2015. Além destes, foram compilados dados de comércio e trânsito de produtos de origem animal (Apêndice I) e das prevalências dos diferentes sorovares nos reservatórios criados no Estado, a partir de estudos prévios na região (Tabela 5), e em Estados que comercializam produtos de origem animal para o Rio Grande do Sul (DOS SANTOS; HEIN; MACHADO, 2012; KICH et al., 2011).

### 3.1.1 Localização dos surtos

Os surtos foram classificados como gerais ou residenciais, dependendo da localização em que o surto ocorreu. A localização pode ser referente a onde a exposição aconteceu (ex., restaurante, ou instituição, como um hospital) ou onde o alimento foi produzido ou comercializado (ex., supermercado). Surtos domiciliares correspondem a todos os surtos que ocorreram em residências privadas, enquanto que surtos gerais incluem todos os surtos que ocorreram fora de residências privadas (ex., restaurantes e cafés, instituições como creches ou enfermarias, hotéis, mercados, refeitórios, abatedouros ou fazendas). A distribuição dos principais sorovares implicados nos surtos de salmonelose humana no período de 2007 a 2012 pode ser visualizada na Figura 5.

**Figura 5** – Principais sorovares de *Salmonella* identificados em amostras clínicas provenientes de surtos no Rio Grande do Sul no período de 2007 a 2012.



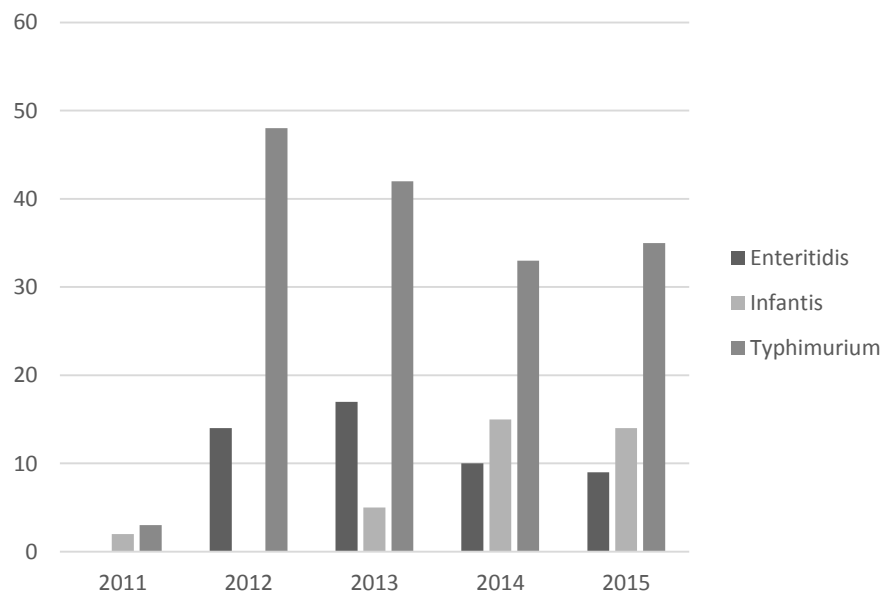
Fonte: DVE/ CEVS/ SES-RS (FIGUEIREDO *et al.*, 2013)

As Figuras 2 e 5, referentes aos dados de amostras alimentares agrupadas por sorotipificação e amostras clínicas (bacteriologias; ex., coproculturas), respectivamente, salientam a hipótese de que *S. Enteritidis* esteja mais relacionada a surtos alimentares, enquanto que a Figura 6 sugere que *S. Typhimurium* vem ganhando importância em casos esporádicos, representado por amostras clínicas. Além disso, tem sido observada de maneira empírica uma relação entre *S. Enteritidis* com surtos causados por ovos (geralmente crus, como ingrediente de maionese caseira), e entre *S. Typhimurium* com casos esporádicos por consumo de carne suína.

### 3.1.2 Vigilância hospitalar

Os casos esporádicos captados pelos NVHE dos hospitais vinculados ao GSS resultaram em 247 isolados de *Salmonella* spp., dos quais a distribuição dos três principais sorovares no período de 2011 a 2015 estão ilustrados na Figura 6.

**Figura 6** – Principais sorovares identificados em amostras clínicas provenientes de casos esporádicos no Rio Grande do Sul no período de 2011 a 2015.



Fonte: LACEN-RS (2015).

### 3.1.3 Monitoramento em reservatórios animais

A ocorrência de *Salmonella* spp. em reservatórios animais (por exemplo, frangos de corte e perus) caracteriza uma vigilância sistemática capaz de captar uma gama maior de sorovares. Segundo dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no período de 2004 a 2011 foram obtidos 21 sorovares diferentes em 128 amostras de frangos de corte e perus de granjas do Rio Grande do Sul, comparados a 16 sorovares obtidos nas NVEH em humanos. Cinco sorovares foram encontrados em comum em ambas as vigilâncias. Os principais sorovares encontrados nas duas espécies animais podem ser visualizados na Tabela 3, com o *top-10* em negrito (Instrução Normativa Nº 20, de 21 de outubro de 2016, MAPA).

Em suínos criados no Rio Grande do Sul, um estudo exploratório do MAPA identificou a ocorrência de 16 sorovares, sendo apenas 6 em comum com a casuística em humanos (Tabela 4). Em Santa Catarina, Estado vizinho ao RS e produtor expoente



de carne suína, dados da ocorrência de *Salmonella* spp. foram obtidos em estudos prévios do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Tabela 5).

**Tabela 3** – Proporção relativa de sorovares de *Salmonella* spp. encontrada em granjas de aves de corte nos Estados de Goiás, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul

Sorovar	Frangos de corte	Perus
<i>S. Enteritidis</i>	<b>30,8%</b>	0,6%
<i>S. Schwarzengrund/Bredeney</i>	<b>8,1%</b>	0,6%
<i>S. Mbandaka</i>	<b>6,0%</b>	<b>2,5%</b>
<i>S. Heidelberg</i>	<b>4,5%</b>	0,6%
<i>S. Infantis</i>	<b>4,1%</b>	<b>2,5%</b>
<i>S. Agona</i>	<b>3,6%</b>	<b>35,7%</b>
<i>S. Muenchen</i>	<b>3,6%</b>	0,0%
<i>S. Saintpaul</i>	<b>3,3%</b>	<b>5,1%</b>
<i>S. Typhimurium</i>	<b>2,9%</b>	<b>2,5%</b>
<i>S. Oranienburg</i>	<b>2,6%</b>	<b>5,7%</b>
<i>S. Newport</i>	2,4%	<b>5,1%</b>
<i>S. Senftenberg</i>	2,1%	<b>9,6%</b>
<i>S. Typhimurium/ 4,[5],12:i:-</i>	2,1%	<b>4,5%</b>
<i>S. Minnesota</i>	2,1%	0,6%
<i>S. Lille</i>	1,9%	0,6%
<i>S. Brackenridge</i>	1,7%	0,0%
<i>S. Poona</i>	1,7%	0,0%
<i>S. Worthington</i>	1,4%	1,3%
<i>S. Derby</i>	1,4%	0,0%
<i>S. Anatum</i>	1,2%	1,9%
<i>S. Javiana</i>	1,0%	1,9%
<i>S. Hadar</i>	0,0%	<b>12,1%</b>

Fonte: o próprio autor.

**Tabela 4** – Estudo exploratório do MAPA com a proporção relativa de sorovares de *Salmonella* spp. encontrada em granjas de suínos no Estado do Rio Grande do Sul

<b>Sorovar</b>	<b>Proporção</b>
<i>Salmonella</i> ser. Anatum	2.7%
<i>Salmonella</i> ser. Derby	10.3%
<i>Salmonella</i> ser. Give	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Infantis	1.4%
<i>Salmonella</i> ser. Lexington	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Ohio	1.4%
<i>Salmonella</i> ser. Oslo	2.1%
<i>Salmonella</i> ser. Panama	4.8%
<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi B	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Rissen	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	22.6%
<i>Salmonella</i> ser. 4,[5],12:i:-	14.4%
<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Manhattan	0.7%
<i>Salmonella</i> ser. Rubislaw	1.4%
<i>Salmonella</i> ser. Javiana	0.7%
Não identificado	34.2%

Fonte: o próprio autor.

**Tabela 5** – Sumário de estudos utilizados para estimar a proporção de sorovares de *Salmonella* em suínos criados em Santa Catarina e região

Sorovares	Região	Amostra (carcaças)	Proporção	Estudo
Derby	Sul do Brasil	109	11.9%	(DA SILVA et al., 2012)
Derby	Santa Catarina	98	2.0%	(KICH et al., 2011)
Derby	Santa Catarina	252	7.1%	(PISSETTI et al., 2012)
Infantis	Santa Catarina	252	2.4%	(PISSETTI et al., 2012)
London	Santa Catarina	252	0.8%	(PISSETTI et al., 2012)
Mbandaka	Santa Catarina	252	0.4%	(PISSETTI et al., 2012)
O:4,5 (B)	Santa Catarina	98	6.1%	(KICH et al., 2011)
O:4,5 (B)	Santa Catarina	252	0.4%	(PISSETTI et al., 2012)
O:4,5:-:1.2 (Stanley)	Santa Catarina	98	1.0%	(KICH et al., 2011)
O:6,7:r:- (Infantis)	Santa Catarina	252	0.4%	(PISSETTI et al., 2012)
Ohio	Santa Catarina	252	0.4%	(PISSETTI et al., 2012)
Panama	Sul do Brasil	109	1.8%	(DA SILVA et al., 2012)
Panama	Santa Catarina	98	4.1%	(KICH et al., 2011)
Panama	Santa Catarina	252	0.4%	(PISSETTI et al., 2012)
Typhimurium	Sul do Brasil	109	16.5%	(DA SILVA et al., 2012)
Typhimurium	Santa Catarina	98	11.2%	(KICH et al., 2011)
Typhimurium	Santa Catarina	252	17.5%	(PISSETTI et al., 2012)

Dados de bovinos também seguiram um Programa Exploratório do MAPA, mas não foram incluídos no estudo, pois não havia sorotipificação até a conclusão desta tese. A prevalência geral de *Salmonella* spp. foi de 1,7% nos anos de 2015 e 2016 (17 amostras positivas/ 1008 amostras analisadas) (comunicação pessoal, Karine Bordignon, MAPA). Do mesmo modo, dados de monitoramento oficial de galinhas poedeiras não estavam disponíveis para inclusão no modelo. Por ser uma fonte de reconhecida importância da epidemiologia de *Salmonella*, dados oriundos da ocorrência desta bactéria em surtos foram extrapolados para imputação no modelo. Dentre todos os surtos notificados ao CEVS no período de 2005 a 2015 causados por ovos, foi estimada a proporção em que *Salmonella* esteve envolvida.

### **3.2 Modelos Bayesianos de atribuição de salmonelose humana a fontes alimentares no Rio Grande do Sul**

Todos os modelos de subtipagem microbiana requerem uma coleção de isolados relacionados temporal e espacialmente de várias fontes e, portanto, são facilitados por um programa integrado de vigilância de doenças transmitidas por alimentos que fornece uma coleção de isolados dos principais reservatórios animais de doenças transmitidas por alimentos. Estes modelos não requerem dados de prevalência e podem basear-se na distribuição dos subtipos de isolados nas diferentes fontes e nos seres humanos (PIRES; DUARTE; HALD, 2018).

#### **3.2.1 O modelo por sorotipificação no Rio Grande do Sul**

A fim de obter uma compreensão da distribuição de ocorrência de infecções por *Salmonella* spp. em humanos, se buscou reproduzir a metodologia de Hald *et al.* (2004) (HALD et al., 2004) que, para estimar o número de casos de salmonelose atribuídos às diferentes espécies de animais domésticos, utilizaram dados de vigilância e monitoramento de *Salmonella* spp. da Dinamarca em 1999. A partir dos dados coletados foi feita a modelagem estatística das evidências. O princípio do modelo de atribuição a fontes por microbiologia consiste em comparar o número de casos humanos causados por diferentes sorovares de um patógeno com a distribuição dos mesmos sorovares em diferentes alimentos de origem animal. O modelo é construído com coletâneas de isolados relacionados no tempo e no espaço de diversas fontes de alimentos e de humanos e o montante de alimentos disponíveis para a população é considerado (Hald *et al.*, 2004; de Knecht *et al.*, 2015) (DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b; HALD et al., 2004). Os parâmetros do modelo estão descritos na Tabela 6.

**Tabela 6** – Descrição e definição dos parâmetros utilizados para estimar o número de casos de salmonelose por fonte animal.

Notação	Descrição	Definição
$i$	Sorovar de <i>Salmonella</i>	$i = 1$ a $I$ , $I = 15$
$j$	Alimento de origem animal (fonte)	$j = 1$ a $J$ , $J = 9$
$p_{ij}$	Prevalência do sorovar $i$ no alimento $j$	Dados
$M_j$	Quantidade de fonte alimentar disponível no mercado estadual no período de 1999 a 2012 em mil toneladas ou milhões de ovos	Dados
$o_i$	Casos observados causados pelo sorovar $i$ no período	Dados/ Poisson
$a_j$	Fator relacionado ao alimento $j$	dunif(0,100)
$q_i$	Fator relacionado ao sorovar $i$	dunif(0,100)
$\lambda_{ij}$	Número de casos esporádicos esperados infectados pelo sorovar $i$ no alimento $j$	$p_{ij} \times q_i \times a_j$
$\lambda_i$	Número de casos esporádicos esperados infectados pelo sorovar $i$	$\sum_j \lambda_{ij}$
$\lambda_j$	Número total de casos esporádicos esperados infectados pelo alimento $j$	$\sum_i \lambda_{ij}$

Fonte: HALD *et al.* (2004, p. 261, tradução nossa)

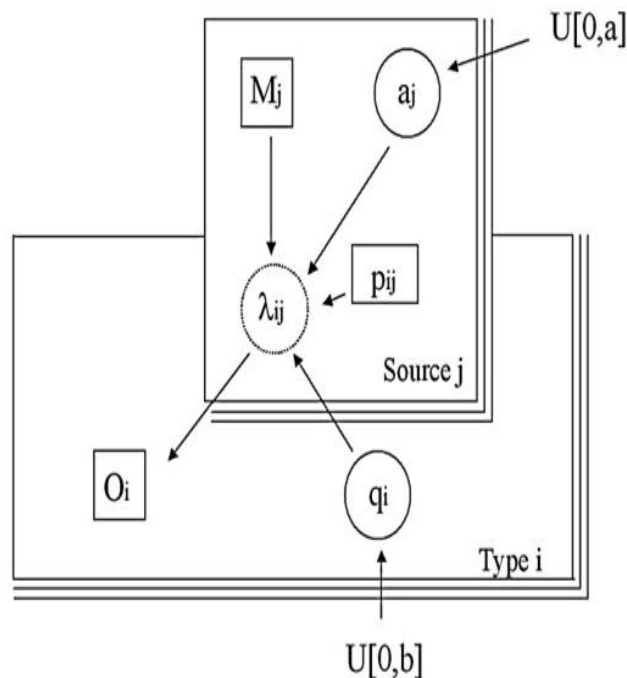
A equação utilizada para estimar o número esperado de casos humanos por alimento e sorovar é definida a seguir:

$$\lambda_{ij} = M_j p_{ij} q_i a_j$$

onde  $\lambda_{ij}$  é o número esperado de casos do sorovar  $i$  do alimento  $j$ ;  $M_j$  a quantidade de alimento  $j$  disponível para consumo;  $p_{ij}$  a prevalência do sorovar  $i$  no alimento  $j$ ;  $q_i$  o fator relacionado ao sorovar  $i$ ; e  $a_j$  o fator relacionado ao alimento  $j$ . O gráfico acíclico dirigido (em inglês: *directed acyclic graph* – DAG) relativo ao modelo Bayesiano é apresentado na Figura 7.

O modelo atribui casos domésticos esporádicos a alimentos de origem animal. Um caso esporádico é definido como um sujeito para qual não foi possível associar a um surto de DTA reconhecido. Casos relacionados a surtos são adicionados aos resultados finais do modelo, e atribuídos ao alimento implicado no surto, caso conhecido. Caso contrário, estes são considerados surtos sem fonte conhecida. Como os subtipos de *Salmonella* spp. são distribuídos por clones entre os hospedeiros animais (HALD *et al.*, 2004), o modelo atribui casos a reservatórios animais.

**Figura 7** – Gráfico acíclico dirigido do modelo Bayesiano para os sorovares de *Salmonella*. As observações são representadas em quadrados, os parâmetros são representados em círculos.  $i$  = índice de sorovar;  $j$  = índice de fonte;  $o_i$  = número observado de casos humanos pelo sorovar  $i$ ;  $\lambda_{ij}$  = número esperado de casos humanos devido ao sorovar  $i$  na fonte  $j$ ;  $M_j$  = consumo observado na população em geral da fonte  $j$  em mil toneladas;  $p_{ij}$  = prevalência observado sorovar  $i$  na fonte  $j$ ;  $q_i$  = parâmetro desconhecido sorovar-dependente do sorovar  $i$ ;  $a_j$  = parâmetro desconhecido fonte-dependente da fonte  $j$ . U significa distribuição uniforme.



Fonte: David et al., 2013a

Nesta tese, o método original foi empregado (HALD et al., 2004), bem como as adaptações de parametrização posteriores que buscaram contornar problemas de identificabilidade causados pela superparameterização do modelo (DAVID et al., 2013b; MULLNER et al., 2009a). A saber, a dificuldade consiste na disparidade entre o número de pontos de dados e o número de parâmetros a serem estimados. Dados  $I$  sorovares e  $J$  fontes, há  $I + J$  parâmetros ( $q_i$  e  $a_j$ ), mas apenas  $I$  pontos de dados independentes (os casos observados totais  $o_i$ ), o que torna o modelo não identificável,

ou seja, as estimativas não podem ser obtidas apenas por meio dos dados e serão sensíveis às distribuições *a priori* utilizadas.

A proposta de Mullner *et al.* (MULLNER et al., 2009a) com dados da Nova Zelândia também foi implementada, em que um nível hierárquico é introduzido nos parâmetros sorovar-dependentes. Isto evita definir um valor constante para alguns dos parâmetros para lidar com a superparametrização no modelo. A forma geral do modelo permanece a mesma, mas os parâmetros sorovar-dependentes são modelados como variáveis aleatórias, as quais seguem uma distribuição log-normal com uma média constante:

$$\log(q_i) \sim N(0, \tau)$$

em que  $\tau$  é um parâmetro de precisão que controla a variação nas características entre os sorovares. A partir da distribuição conjunta *a posteriori* simulada, distribuições *a posteriori* marginais das variáveis aleatórias  $q_i$  (com  $i=1, \dots, I$ ) podem ser recuperadas (MULLNER et al., 2009a). Além desta modificação do modelo dinamarquês original, Mullner *et al.* (MULLNER et al., 2009a) também incorporaram incerteza nos parâmetros de prevalência, evitaram parâmetros de consumo de alimentos, e mudaram a distribuição *a priori* dos parâmetros fonte-dependentes.

David *et al.* (2013) (DAVID et al., 2013b) compararam diferentes parametrizações para o parâmetro sorovar-dependente, além das propostas de Hald, Mullner, e o modelo holandês simplificado (sem os parâmetros fonte- e sorovar-dependentes, mas com o parâmetro de consumo de alimentos). A fixação de um valor arbitrário (por exemplo, 1) para cada um dos sorovares mais importantes (*S. Enteritidis* e *S. Typhimurium*) respectivamente, ou seja, um de cada vez, e definindo a mesma distribuição uniforme não-informativa do modelo dinamarquês original para os demais sorovares. Por fim, informando o modelo com valores baseados nos dados para sorovares únicos (específicos para uma única fonte), considerando que o número de casos pode ser diretamente relacionado com a prevalência nesta fonte (DAVID et al., 2013b).

Originalmente, distribuições uniformes não informativas com um limite inferior positivo foram utilizadas para o parâmetro fonte-dependente ( $a_j$ ). Para assegurar que os limites superiores permitam a inclusão de todos os valores possíveis para o parâmetro, as distribuições *a posteriori* são avaliadas visualmente. Caso as distribuições pareçam estar interrompidas, as distribuições uniformes são ampliadas (HALD et al., 2004). Mullner *et al.* também modificaram as distribuições *priori* para este parâmetro.

Distribuições *a priori* independentes foram escolhidas como  $a_j \sim$  exponencial ( $\gamma$ ). Esta *priori* é essencialmente não informativa, mas previne que  $a_j$  se torne muito ampla, enquanto não especifica um limite superior restrito como no modelo Hald (MULLNER et al., 2009a).

O modelo foi construído utilizando as técnicas de MCMC com o software R (versão R 3.3.3 2017, R Development core team). O código foi desenvolvido a partir do código original de Hald *et al.* (HALD et al., 2004) (Apêndice II). Três cadeias de Markov independentes, com valores iniciais amplamente dispersos, foram executadas por 120.000 iterações após um período de *burn-in* de 60.000 iterações, com um *thinning* de 1. A convergência foi monitorada usando o método desenvolvido por Gelman e Rubin (GELMAN; RUBIN, 1992) (Apêndices III a VIII). O comprimento da cadeia foi determinado pela execução de iterações suficientes para garantir que os erros de Monte Carlo para cada parâmetro fossem inferiores a 5% do desvio padrão posterior.

### 3.2.2 Atribuição de salmonelose humana a fontes alimentares usando dados de investigações de surtos

A descrição do modelo de atribuição de salmonelose humana utilizando dados de investigações de surtos alimentares foi dividida em: dados incluídos e método, categorização dos alimentos e visão geral do modelo.

#### 3.2.2.1 Dados incluídos e método

A Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde desenvolveu o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA). O sistema VE-DTA utiliza o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), que permite identificar a suspeita da ocorrência de um evento na população contribuindo para a identificação da epidemiologia em determinada região (ANONYMOUS, 2006). A coordenação do programa no Rio Grande do Sul criou um banco de dados paralelo desde 2000, visto que os surtos de DTA somente foram contemplados no SINAN Web a partir de 2007. Os dados foram organizados considerando que cada surto reportado correspondesse a uma observação no banco de dados final. Cada observação continha informação referente ao ano de ocorrência, a Coordenadoria Regional de Saúde (CRS), ao número de pessoas doentes e fatalidades associadas com o surto, a localização do surto e a fonte implicada. Tanto os surtos



confirmados (laboratorial ou epidemiologicamente) quanto suspeitos foram utilizados e, para campos incompletos, o dado foi incluído como desconhecido, como a fonte, por exemplo. Evidências epidemiológicas analíticas correspondem a associações estatisticamente significativas entre um item alimentar e casos humanos no surto de DTA, demonstrado pelas investigações de surtos do CEVS. Evidências laboratoriais implicam que o agente causador foi detectado por métodos laboratoriais adequados na fonte alimentar ou no ambiente de produção e preparo. Os dados contemplaram o período de 2006 a 2015. O número de surtos confirmados por *Salmonella* spp. foi irregular no decorrer dos anos, sem confirmação de surtos por algumas CRSs todos os anos.

O método utilizado foi baseado nos trabalhos de Pires *et al.* (2010, 2012) (PIRES *et al.*, 2012, 2010). O princípio consiste em atribuir salmoneloses humanas a alimentos com base no número de surtos causados por cada um desses alimentos. Para tal, alimentos incriminados são classificados com base em seus ingredientes como alimentos simples (p. ex. pertencendo a uma única categoria alimentar), ou alimentos complexos (p. ex. pertencendo a múltiplas categorias de alimentos). Os ingredientes constituintes de alimentos complexos são designados conforme critério definido.

Foram feitas três sub-análises: (a) temporal, com a estratificação do período de 2005 a 2015 em três sub-períodos; (b) regional, com a estratificação em sete mesorregiões rio-grandenses; e (c) locacional; referente a surtos ocorridos no ambiente domiciliar ou fora dele. Devido a diferenças nas consistências dos dados, na sub-análise (a) foram utilizados dados de 287 surtos, enquanto na (b) e (c), 817. O resultado final foi a proporção de surtos atribuída às diferentes fontes alimentares.

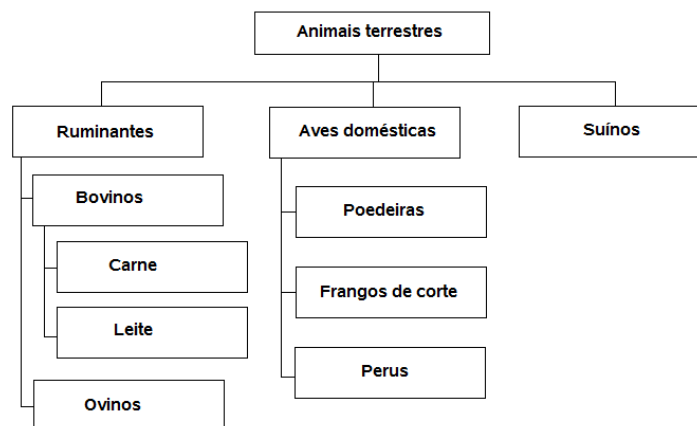
### 3.2.2.2 Categorização dos alimentos

A harmonização da categorização de fontes é essencial para comparar e divulgar os resultados de diferentes estudos de atribuição de fontes. Diferentes instituições e regiões podem coletar e compilar dados de maneiras particulares com variações na categorização de fontes. Os dados utilizados podem representar diferentes pontos da cadeia de transmissão, descrevendo tanto os níveis de reservatório, quanto de processamento e exposição. A combinação de diferentes métodos de atribuição de fontes e a comparação dos resultados é usualmente praticada para superar limitações dos diferentes métodos e melhorar o conhecimento das principais fontes de um patógeno em particular. Entretanto, estas integrações são complicadas sem um sistema

de categorização das fontes de transmissão. Um sistema deve ser hierárquico e ao mesmo tempo comportar níveis distintos de detalhes necessários a diferentes finalidades.

Itens alimentares foram classificados utilizando um esquema hierárquico baseado em *commodities*, adaptado de Painter *et al.* (2009) (PAINTER *et al.*, 2009). Os alimentos foram divididos em categorias alimentares específicas de animais terrestres (Figura 7), plantas e frutos do mar. O critério utilizado para definir um alimento como complexo foi a composição conter ingredientes de mais de uma categoria alimentar. Caso contrário, o alimento foi considerado como simples. A lista de ingredientes para alimentos complexos reportados foi obtida por revisão de receitas na *internet* (PAINTER *et al.*, 2009): as três receitas principais de uma busca no Google foram selecionadas; quando as receitas eram conflitantes, os ingredientes listados em pelo menos duas das três receitas foram selecionados. Surtos sem fontes reportadas foram classificados como desconhecidos. Categorias pertencendo a ingredientes de animais terrestres foram agrupadas em carnes (não específicas) em alguns casos dependendo do grau de detalhamento das informações disponíveis.

**Figura 8.** Esquema hierárquico para categorização de itens alimentares de animais terrestres.



Fonte: próprio autor

### 3.2.2.3 Visão geral do modelo

Os parâmetros do modelo estão descritos na Tabela 7. A proporção de salmonelose humana que pode ser atribuída a cada fonte alimentar foi estimada com base no número de surtos por alimentos simples causados por cada fonte, nos ingredientes (categorias de alimentos) constituintes de alimentos complexos, e na probabilidade que cada uma dessas categorias foi a causa dos surtos por alimentos complexos. Os dados de surtos por alimentos simples foram resumidos, e a proporção de surtos causados por cada categoria foi utilizada para definir a distribuição representando a probabilidade que um surto  $i$  foi causado pela fonte  $j$  ( $P_j$ ). Esta probabilidade foi estimada por fonte usando a informação de todas as CRSs e no período inteiro. Para o cálculo do número de surtos atribuídos a cada fonte, surtos por alimentos simples foram atribuídos para as categorias de alimentos simples respectivas. Por sua vez, surtos por alimentos complexos foram particionados de acordo com cada categoria de alimentos no alimento incriminado, proporcionalmente a sua probabilidade de causar um surto por alimento simples, calculado por  $P_j$ . Como resultado, surtos por alimentos complexos foram atribuídos apenas a categorias que foram incriminadas em pelo menos um surto por alimento simples.

O modelo foi construído no WinBUGS 1.4 (<http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/>), que utiliza como padrão o amostrador de Gibbs (simulação de Monte Carlo via cadeias de Markov; MCMC), em que se estimou  $P_j$  (cinco cadeias de Markov independentes com 60.000 iterações). Para cada cadeia, diferentes valores iniciais foram utilizados para  $P_j$ , amplamente dispersos na distribuição alvo. A convergência foi monitorada usando os métodos descritos por Gelman e Rubin (1992) (GELMAN; RUBIN, 1992) e foi considerada quando as cadeias atingiram estabilidade e a variância entre diferentes cadeias não foi maior que a variância dentro de cada cadeia individualmente.

**Tabela 7** – Parâmetros usados para estimar o número de surtos reportados de *Salmonella* spp. atribuídos a fontes alimentares.

Notação	Descrição	Cálculo
$i$	Surto confirmado	-
$j$	Fonte	-
$t$	Período de três ou quatro anos	-
$r$	Mesorregião riograndense	-
$l$	Localização	-
fonteSj	Número total de surtos por alimentos simples causados pela fonte $j$	Soma
totalS	Número total de surtos por alimentos simples, no período inteiro e em todas as CRSs	Soma
ntotalsurtosc; ntotalsurtost	Número total de surtos reportados na CRS $c$ ou na mesorregião $r$ ou no período $t$	Soma
$P_j$	Probabilidade que um surto $i$ foi causado por uma fonte $j$	Beta (fonteSj + 1, totalS - fonteSj + 1)
fonteSjc; fonteSjt	Número total de surtos por alimentos simples causados por fonte $j$ na CRS $c$ ou período $t$	Soma
fonteCjc; fonteCjt	Número total de surtos por alimentos complexos atribuídos a fonte $j$ na CRS $c$ ou período $t$	$(P[j]*F[i,j])/soma(P[j]*F[i,j:J])$
Fij	Categorias de alimentos incriminados $j$ em surto $i$	Dados
Totaljc; Totaljt	Número total de surtos atribuídos a fonte $j$ em CRS $c$ no período $t$	fonteSjc ou fonte Sjt + fonteCjc ou fonte Cjt
Attribj	Proporção de doença atribuída a fonte $j$	$(Totalj*100)/ntotalsurtosc/t$

Fonte: PIRES *et al.* (2012, p. 131, tradução nossa)

## 4 RESULTADOS

Os resultados das análises por sorotipificação microbiana e de dados de investigação de surtos são descritos nas seções 4.1 e 4.2.

### 4.1 Atribuição de salmonelose humana por sorotipificação microbiana

Sorovares isolados de casos humanos foram selecionados de acordo com sua ocorrência nas fontes de animais de produção, os quais incluíram 15 sorovares. Apenas uma subespécie de *Salmonella enterica* e três sorovares de *S. enterica enterica* não foram detectados em nenhuma das fontes e foram excluídas da análise (*S. enterica arizonae*, e os sorovares de *S. enterica enterica*, Muenchen, Ohio, e Oranienburg).

As fontes mais importantes de salmonelose humana no Rio Grande do Sul no período compreendido entre 2005 e 2015 foram poedeiras (ovos), com 39,4% (159 casos, Intervalo de Credibilidade de 95% (ICr95% 43-247) dos casos, seguido por 34,5% atribuído a suínos criados em Santa Catarina (139 casos, ICr95% 60-187). Perus criados em outros estados e frangos criados no RS foram estimados como fontes de *Salmonella* de menor importância, contribuindo com cerca de 10% cada (perus criados em GO, PR, e SC: 42 casos, ICr95% 15-125; e frangos criados no RS: 40 casos, ICr95% 1-139).

Os sorovares mais importantes na casuística de salmonelose humana por consumo de alimentos de origem animal foram *S. Enteritidis*, responsável por 43,4% (175 casos, ICr95% 150-202) e *S. Typhimurium*, contribuindo com 39,9% (161 casos, ICr95% 137-187). As estimativas das principais combinações de sorovares e fontes de origem animal estão apresentadas na Tabela 8. De todas as infecções por *S. Enteritidis*, 84,6% foram atribuídas a poedeiras (148 casos, ICr95% 48-189), ao passo que 77% dos casos por *S. Typhimurium* tiveram origem em suínos criados em Santa Catarina (124 casos, ICr95% 45-156). Dentre sorovares emergentes, destacaram-se *S. Infantis* em suínos (de SC) e *S. Newport* em perus (de GO, PR e SC). O número observado ( $o_i$ ) e o número esperado ( $\lambda_i$ ) de casos por sorovar de *Salmonella* estão plotados na Figura 8.

O maior valor para os fatores fonte-dependente  $\{a_j\}$  foi encontrado para ovos seguido por carne de peru, enquanto o menor foi encontrado para carne suína (Tabela 9). Entretanto, a amplitude de credibilidade para ovos foi ampla. Este parâmetro indica a probabilidade de infecção pelo consumo de determinada unidade (por exemplo, um quilograma) de uma fonte em comparação com outra fonte. Os valores estimados para

os fatores sorovar-dependentes  $\{q_i\}$  também estão apresentados na Tabela 9. Os resultados sugerem que a habilidade de *S. Infantis* em sobreviver ao processamento alimentar e/ ou causar doença é cerca de 40% maior que a de *S. Enteritidis* ( $q = 57,7$ , ICr95%: 17,7-97,2), e cerca de 50% maior que a de *S. Typhimurium*.

**Tabela 8** – Estimativas dos números de casos esperados para as principais combinações de sorovares e fontes de animais de produção de diferentes estados causadores de salmonelose humana no Rio Grande do Sul entre 2005 e 2015.

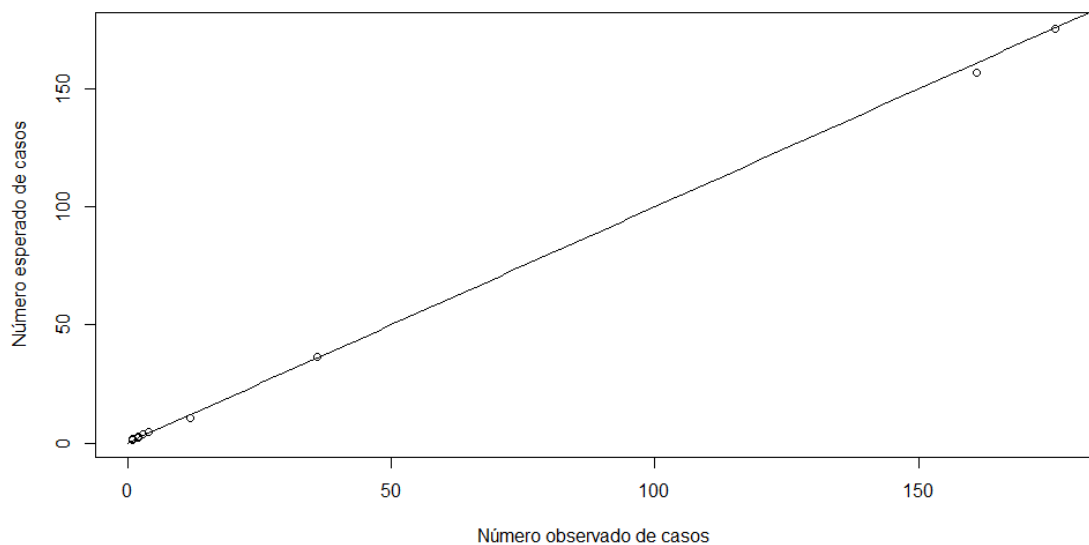
Sorovar/ Fonte (Estado*)	Mediana	ICr 95%
<i>S. Enteritidis</i> / Ovos	148	(48 – 189)
<i>S. Typhimurium</i> / Suínos (SC)	124	(45 – 156)
<i>S. Enteritidis</i> / Frangos (RS)	17	(1 – 100)
<i>S. Infantis</i> / Suínos (SC)	16	(3 – 32)
<i>S. Typhimurium</i> / Perus (GO/PR/SC)	12	(3 – 85)
<i>S. Newport</i> / Perus (GO/PR/SC)	11	(5 – 18)
<i>S. Typhimurium</i> / Suínos (RS)	10	(3 – 12)
<i>S. Typhimurium</i> / Ovos	8	(2 – 40)

\*GO: Goiás; PR: Paraná; RS: Rio Grande do Sul; SC: Santa Catarina

**Tabela 9** – Valores estimados para os fatores fonte e sorovar-dependentes:  $a_j^a$  e  $q_i$ 

	Média	Posição	DP	Mediana	ICr 95%	
a[ovos]	7,83	1	5,11	6,39	2,67	21,53
a[perus]	0,24	2	0,20	0,17	0,07	0,81
a[frangos]	0,00	3	0,00	0,00	0,00	0,00
a[suínos]	0,00	4	0,00	0,00	0,00	0,00
q[S. Infantis]	81,28	1	15,03	84,89	44,57	99,39
q[S. Give]	62,65	2	24,59	65,61	12,93	98,39
q[S. Newport]	61,41	3	25,26	64,25	13,92	98,41
q[S. Enteritidis]	57,72	4	22,55	57,13	17,77	97,18
q[S. Typhimurium]	54,05	5	21,25	50,84	19,81	96,35
q[S. Corvalis]	49,54	6	26,15	47,93	6,67	96,66
q[S. Johannesburg]	49,42	7	26,08	47,82	6,67	96,63
q[S. Braenderup]	48,79	8	24,90	46,55	8,53	95,96
q[S. London]	21,09	9	19,10	14,89	1,67	76,50
q[S. Schwarzengrund]	17,47	10	17,46	11,51	0,92	67,82
q[S. Heidelberg]	17,38	11	18,02	11,02	0,81	69,80
q[S. Saintpaul]	16,25	12	13,43	12,49	1,78	52,42
q[S. Panama]	10,70	13	6,03	9,49	2,58	25,62
q[S. Agona]	3,45	14	2,68	2,76	0,45	10,47
q[S. Derby]	2,78	15	3,98	1,70	0,19	11,87

<sup>a</sup> Valores de  $\{a_j\}$  estão em  $10^{-5}$

**Figura 9** – Gráfico dos valores observados e esperados do número de casos notificados por sorovar de *Salmonella*.

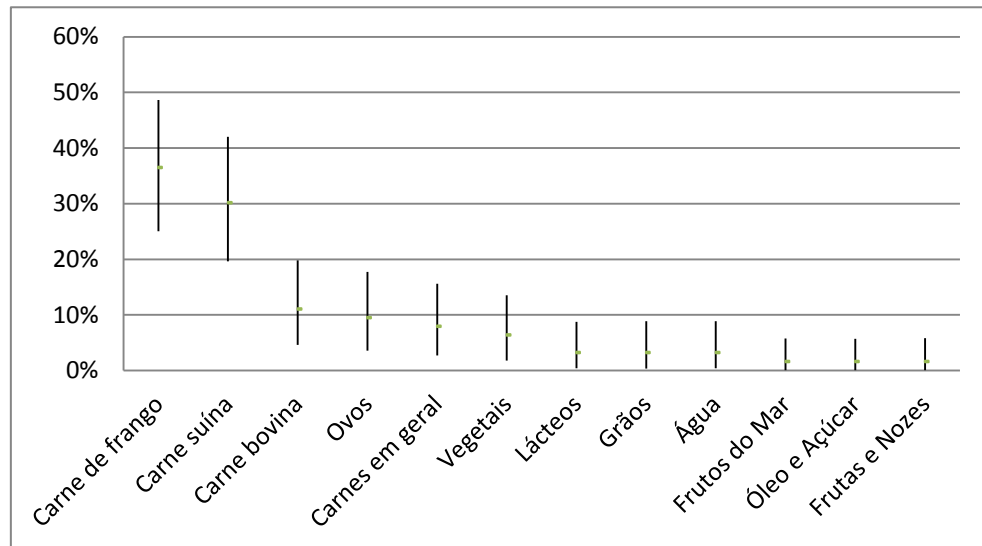
## 4.2 Atribuição de fontes de salmonelose humana por análise de dados de investigações de surtos

Análises de dados de investigações de surtos foram realizadas para estimar a proporção de surtos de salmonelose atribuíveis a fontes específicas na população das diferentes mesoregiões do Rio Grande do Sul. Sub-análises estimaram a importância das fontes por localização (comparando surtos gerais e domésticos), por região (sete mesoregiões do RS) e por triênio/quadrênio (de 2006 a 2015). A probabilidade  $P_j$  que um surto tenha sido causado por uma fonte  $j$  foi maior para carnes de frangos e suínos, seguidos de bovinos, ovos, carnes em geral e vegetais (Figura 9). Isto significaria dizer que, por exemplo, em um surto causado por alimento composto contendo carne de porco e vegetais, a probabilidade que a causa tenha sido a carne de porco seria 30,1% (ICr95% 19,6-42,0), e vegetais 6,4% (ICr 1,2-13,5).

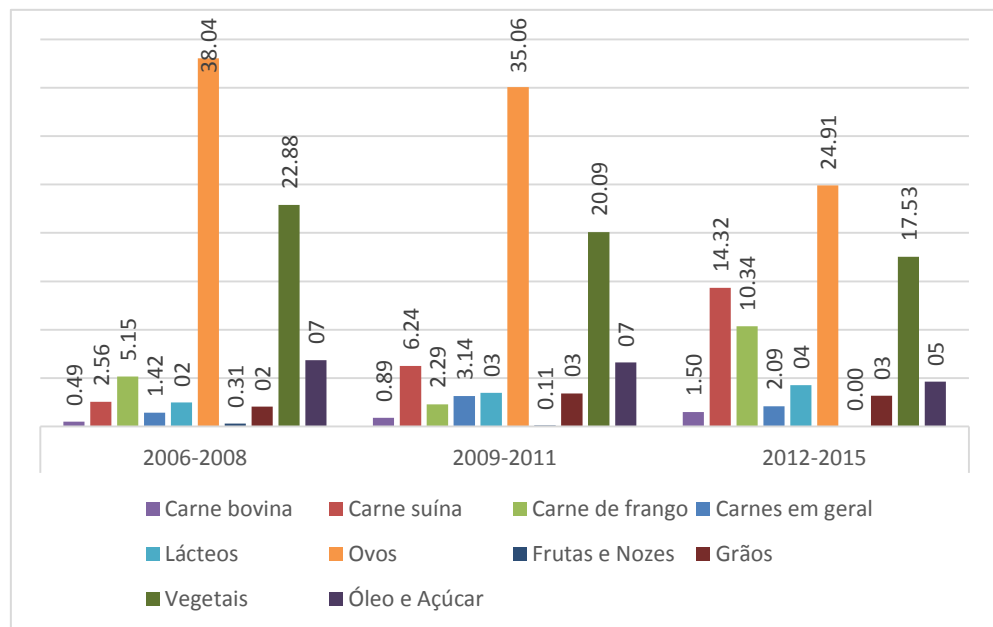
A proporção de surtos de salmonelose transmitida por alimentos oriundos de dados de investigação epidemiológica está apresentada por período na Figura 10, estratificada por períodos de três a quatro anos. Ovos foram estimados como sendo a fonte mais importante, mas demonstraram declínio de cerca de 13% no período estudado e diferença de aproximadamente 10% com carne de porco no quadrênio final (maior que 36% no primeiro triênio). As outras fontes alimentares demonstraram menores variações, com aumento de 5% na proporção da carne de frango e diminuição de 5% na de vegetais.



**Figura 10** – Prevalência *a priori* obtida a partir de alimentos simples ( $P_j$ ) para *Salmonella* spp. (média e intervalo de credibilidade de 95%), Rio Grande do Sul, Brasil.



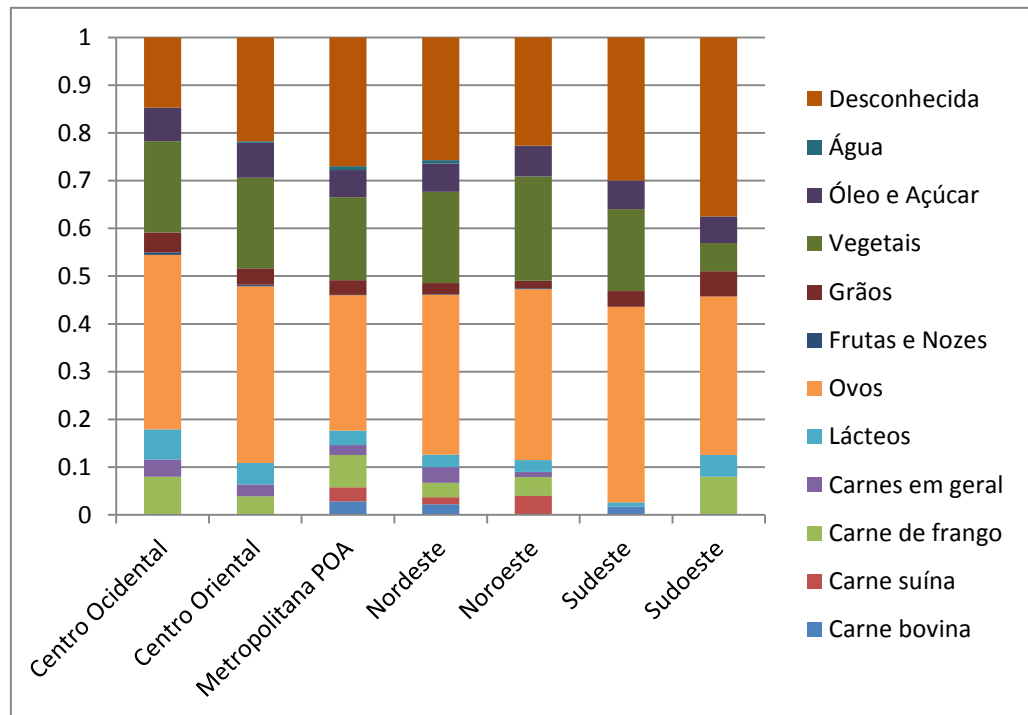
**Figura 11** – Proporção de surtos de salmonelose atribuída a alimentos no Rio Grande do Sul, nos triênios 2006-2008, e 2009-2011, e quadriênio 2012-2015.



Diferenças entre as locações de surtos (geral ou doméstico) não foram expressivas. Fora do domicílio as proporções foram maiores para ovos e carnes em geral, e no domicílio, para carnes bovina e suína. Diferenças menores foram encontradas nos outros alimentos reportados nas investigações de surtos. Na sub-análise

entre mesorregiões, foi observado um padrão nas proporções de alimentos causadores de surtos de salmonelose, com causas desconhecidas, ovos, e vegetais predominando e com pequenas diferenças de importância (*ranking*) na proporção das quatro categorias de fontes de carne (Figura 11).

**Figura 12** – Proporção de surtos de salmonelose atribuída a alimentos nas mesorregiões do Rio Grande do Sul.



## 5 DISCUSSÃO

Esta tese apresenta duas abordagens para atribuição de fontes de salmonelose humana. Uma abordagem por sorotipificação microbiana para atribuição de fontes foi implementada em dados do Rio Grande do Sul e contou com estimativas para os parâmetros desconhecidos  $a_j$  e  $q_i$ , referentes às capacidades das fontes em veicular salmonelose e às habilidades dos diferentes sorovares em causar infecção. A segunda abordagem fez uso de dados de investigações de surtos confirmados e suspeitos de salmonelose. Esta seção discute os métodos individualmente, bem como o quadro geral dos resultados dos estudos conduzidos.

### 5.1 O modelo de sorotipificação microbiana no RS

A abordagem de sorotipificação microbiana tem provado ser uma valiosa ferramenta para quantificar a importância de diferentes reservatórios de animais de produção na casuística de doenças em humanos e, assim, auxiliar nas decisões de mitigação de riscos, guiar intervenções prioritárias na origem, e, finalmente, medir os efeitos de programas de controle em voga sobre o ônus das doenças em humanos. Resultados do modelo de sorotipificação microbiana no RS sugerem que poedeiras foram os reservatórios de salmonelose mais importantes, sendo responsável por praticamente 40% das infecções por *Salmonella* no período estudado. Os ovos provavelmente são oriundos de fontes não inspecionadas (COSTALUNGA; TONDO, 2002; WAGNER; SILVEIRA; TONDO, 2013). Suínos criados em SC foram estimados como sendo a segunda maior fonte de contribuição (aproximadamente um terço dos casos). Perus criados em estados fora do RS e frangos criados no RS surgiram como fontes de menor importância, com aproximadamente 10% de contribuição nos casos.

Deve-se considerar que as estimativas são dependentes da disponibilidade de dados para utilização no modelo, considerando a representatividade da sorotipificação dos isolados e das fontes estudadas. Ranta *et al.* (2011) discutem a aplicabilidade de dados de vigilância periódicos considerando que estimativas de prevalência na produção são substitutos imperfeitos da real exposição e que fontes não representadas contribuem ao impacto das doenças na população humana (RANTA *et al.*, 2011). Conforme a coleta em séries temporais aumenta, os modelos de prevalências temporais melhoram e fornecem estimativas até mesmo em períodos com dados faltantes. Pires e Hald (2010) analisaram dados de três anos de vigilância dinamarquesa e exploraram a atribuição de fontes em dados com menor poder discriminatório, com apenas sorotipificação (PIRES;

HALD, 2010). Salienta-se a utilidade do modelo mesmo com um grau de discriminação razoável (nível de sorovar, sem subtipificação) e possibilidade de aplicação em maior escala (outros estados).

Por falta de estudos confiáveis e representativos, comparações com estudos na região ficam dificultados. Entretanto, tendo em mente a potencial influência nos padrões de consumo e preparo de alimentos por parte da colonização histórica de imigrantes europeus, é plausível a comparação com países daquele continente que tiveram sucesso na atribuição de fontes de origem animal de salmonelose humana. De Knecht *et al.* (2015) estimaram que poedeiras foram as principais fontes de salmonelose em cerca de metade dos 24 países europeus estudados, seguidas por suínos, primeiro na classificação em oito países (DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b). Particularmente na Itália, suínos foram a fonte mais importante seguida por *Gallus gallus* (sem distinção entre finalidade de produção), fonte esta que demonstrou declínio em importância (MUGHINI-GRAS *et al.*, 2014a).

A abordagem por subtipagem microbiana atribui salmonelose aos principais reservatórios de animais de produção, já o consumo de outros alimentos, tais como frutas e vegetais, e vias de transmissão como contatos diretos com animais domésticos não são contabilizados. A principal vantagem do modelo Bayesiano em comparação com um modelo puramente frequentista (VAN PELT *et al.*, 1999) é a possibilidade de estimação de fatores adicionais referentes às diferenças de habilidades de causar doenças por diferentes sorovares, bem como das fontes de servir como veiculadoras de cargas bacterianas de *Salmonella*. O modelo frequentista, apesar de simples e de fácil aplicação, considera que tais fatores são constantes.

Os fatores sorovar e fonte-dependentes levam em conta tanto a consistência dos sistemas de vigilância de casos humanos e monitoramento de fontes animais quanto à variabilidade intrínseca dos sorovares nas diferentes populações, e devem ser interpretados relativamente, ou seja, não como medidas absolutas. As estimativas podem ser utilizadas para estudos de avaliação de risco futuras ou como classificadores de risco (EBEL *et al.*, 2012). Presume-se que tais fatores representam fatores múltiplos que descrevem um sistema complexo não completamente compreendido. O método pode ser considerado como uma “caixa preta”, uma vez que o fator  $q_i$  sorovar-dependente não traduz diretamente a patogenicidade (causalidade) e virulência (magnitude) de sorovares específicos, ou mesmo a habilidade de sobrevivência destes.

Do mesmo modo,  $a_j$  descreve múltiplos parâmetros que incluem a variabilidade dos sistemas de vigilância e características específicas das fontes alimentares.

## 5.2 O modelo de investigações de surtos

A associação entre patógenos causando doenças gastrointestinais na população e o alimento específico que serve de veículo para estas infecções é a essência da atribuição de fontes. A unidade de interesse e da análise escolhida para este estudo de atribuição de fontes foi o surto (ADAK et al., 2005; GREIG; RAVEL, 2009), a comparação entre as análises de atribuição feitas pelo número de doentes e pelo número de surtos sugere que a primeira pode levar a uma superestimação da importância geral das fontes ao extrapolar para a experiência esporádica. Isso pode acontecer quando os dados são escassos e/ ou se alguns dos surtos relatados são muito grandes (PIRES, 2009). O número real de casos foi considerado ser mais relacionado ao patógeno causador, a localização e a fatores contribuintes que levam ao consumo de alimentos inseguros ao invés da natureza do veículo por si só. O impacto da carga das combinações de patógenos e alimentos na saúde populacional é altamente relevante para avaliação de risco e tomada de decisão e deve ser tratado com um estágio subsequente. A análise por número de surtos tem sido descrita como o melhor indicador da proporção de doenças total (PIRES, 2009). Nesta tese, tal análise foi realizada ao invés da atribuição a fontes de *Salmonella* considerando número de acometidos, pois neste caso pode haver superestimações quando há dados esparsos ou surtos de grande magnitude (PIRES, 2009). Com o propósito de atribuição de doenças humanas a fontes específicas, dados de surtos devem ser utilizados de maneira que minimize, por exemplo, o impacto de fontes pouco importantes que causem surtos com um grande número de doentes.

A falta de padronização de classificação dos alimentos incriminados tem sido um problema importante quando se pretende analisar registros de dados de surtos de doenças transmitidas por alimentos, temporal e geograficamente. Definições das categorias de alimentos e estruturas hierárquicas foram utilizadas para contornar essa limitação, mas é necessária uma harmonização entre instituições. No final da década passada, a União Européia propôs diretrizes para compilar informações uniformemente pelos seus estados membros (ANONYMOUS, 2007), e recentemente uma colaboração entre três agências federais nos Estados Unidos atualizou o esquema de categorização de alimentos implicados em surtos de doenças transmitidas por alimentos (PAINTER et

al., 2009), resultando em uma hierarquia de cinco níveis de acordo com o grau de processamento empreendido nos alimentos (RICHARDSON et al., 2017). Por outro lado, a classificação etiológica é baseada em taxonomia biológica e menos propensa a erros de classificação.

Dados de surtos de *Salmonella* spp. no Rio Grande do Sul foram utilizados para atribuir surtos de salmonelose humana a fontes específicas. Alimentos simples incriminados em surtos foram resumidos e dados de alimentos complexos incriminados foram modelados para estimar a contribuição relativa de *commodities* alimentares a salmonelose humana. Um conjunto de sub-análises foi realizado, estimando a importância de fontes em (1) diferentes localidades (surtos gerais versus domésticos), (2) diferentes mesorregiões gaúchas, e (3) diferentes períodos entre 2006 e 2015. Caso alguma categoria de alimentos não tenha sido implicada em algum surto causado por alimentos simples, a categoria não foi considerada como uma possível fonte de surtos por alimentos complexos. Esta premissa pode resultar em uma subestimação da importância de alguns alimentos. Entretanto, nossas estimativas são orientadas pelos dados e esta limitação pode ser superada com a inclusão de quantidades maiores de dados ou com análises incluindo um período de estudo estendido (PIRES et al., 2010).

A sub-análise por localizações de ocorrência dos surtos demonstraram diferenças que suscitam a discussão sobre as diferentes formas de obtenção, preparo e armazenamento dos alimentos. Carnes bovina e suína foram levemente mais importantes no ambiente doméstico, ao passo que ovos e carnes em geral, em localidades gerais (restaurantes, hospitais, etc.). Ao examinar tendências de surtos de DTA por *S. Enteritidis* no período de 1973 a 2009, Wright *et al.* (2016) (WRIGHT et al., 2016) encontraram um risco relativo de 1,9 ( $P < 0,001$ ) no varejo (restaurantes, ambulantes, etc.) em comparação com locais diversos ao varejo em que alimentos contendo ovos foram implicados em surtos. Duas explicações foram levantadas. Primeiro, poderia haver um viés de vigilância, pelo fato de surtos em estabelecimentos públicos serem mais propensos a detecção, investigação e notificação por departamentos de saúde pública do que surtos em outras localizações (GREEN et al., 2005; MURPHREE et al., 2012). Alternativamente, práticas de alto risco no preparo de ovos foram identificadas como sendo comuns em restaurantes (LEE et al., 2004).

Mughini-Gras *et al.* (2014) (MUGHINI-GRAS et al., 2014c) combinaram dados de atribuição de fonte e caso-controle em uma única análise para explorar fatores de risco no ponto de exposição para salmonelose humana oriunda de quatro reservatórios

animais de produção de alimentos putativos na Holanda (suínos, bovinos, frangos de corte e poedeiras). Além de indicar que a maioria dos casos humanos foi atribuída a poedeiras/ovos e suínos, fatores de risco fonte-específicos foram identificados. O consumo de carnes cruas ou pouco cozidas foi fator de risco para infecção pelas fontes bovinas, suínas e de frangos de corte, assim como o uso não exclusivo de tábuas de corte (contaminação cruzada). Salmonelose associada à poedeiras/ovos tiveram como fatores de risco o consumo de ovos e derivados crus ou mal cozidos. Poedeiras/ovos e frangos de corte foram os reservatórios mais prováveis para salmonelose em adultos, em áreas urbanas, na primavera/verão; enquanto que suínos e bovinos os mais prováveis em crianças, no meio rural, no outono/inverno, indicando também um risco ocupacional para essas espécies, pelo contato direto e exposição ambiental.

Estimativas de atribuição variaram sutilmente entre as mesorregiões sulriograndenses, com destaque para as fontes desconhecidas, vegetais, ovos e carne de frango. Por menores que sejam as diferenças, estas podem refletir tanto variações em hábitos de consumo e prevalências de *Salmonella* spp. nas fontes investigadas, quanto na disponibilidade e qualidade dos dados, e até percepções de risco distintas entre os investigadores de surtos. Os resultados demonstram pouca variabilidade e padrões similares na classificação das fontes de maior importância: entre os conhecidos, ovos e vegetais. Diferenças regionais podem ser mais evidentes quando o estudo de atribuição de fontes ocorre em áreas geográficas maiores (por exemplo, entre países) (PIRES et al., 2012, 2010). Considerando o maior aporte de notificações de surtos na região metropolitana de Porto Alegre, um estudo recente identificou *Bacillus cereus* como a bactéria mais importante nesta mesorregião no período de 11 anos entre 2003 e 2013 (LENTZ et al., 2018). Os autores consideram que o uso compulsório de ovos pasteurizados tem controlado salmonelose transmitida por ovos. Este resultado corrobora com a diminuição de importância de fontes clássicas de *Salmonella* (ovos).

Diferenças na atribuição de fontes entre períodos agregados de três ou quatro anos indicaram o aumento de importância mais expressivo na proporção de carne suína como fonte de salmonelose humana. Por outro lado, houve declínio na importância de ovos e vegetais como causas da doença. O modelo de análise de surtos pode ser implementado em uma variedade de patógenos ou outros agentes comumente transmitidos por alimentos, incluindo agentes químicos. O método é simples e pode proporcionar uma visão geral das fontes mais importantes de determinado patógeno, podendo ser aplicado anual ou periodicamente e permitindo uma análise de tendências

na importância das fontes. Por vezes, dados de investigação de surtos são os únicos dados disponíveis para atribuição de enfermidades humanas, e podem ser acessados em diversos países com número suficiente de surtos em um dado período que permita a abordagem. Em caso de escassez de surtos, o método pode incluir informações de um grupo de regiões, estados ou países em contiguidade a fim de aumentar a quantidade de dados e alcançar estimativas robustas.

### **5.3 Comparação das abordagens e resultados**

A comparação entre os dois métodos de atribuição de fontes empregados requer uma clara diferenciação de recursos de dados (requerimentos, disponibilidade, confiabilidade e qualidade), de características dos métodos (número de parâmetros, tipos de parâmetros, estimativas de incertezas, identificabilidade, premissas, pré-requisitos e número de fontes), e o ponto de atribuição (reservatório, exposição).

#### **5.3.1 Características dos dados**

Abordagens microbiológicas para atribuição de fontes requerem dados representativos sobre a ocorrência e distribuição dos patógenos/subtipos de patógenos em fontes animais e alimentares, bem como dados de vigilância em humanos. Sendo assim, o método somente poderá ser aplicado na presença de dados de programas de vigilância e/ou estudos de caso-controle ou monitoramento representativos. Para que os resultados de atribuição sejam válidos, as fontes mais importantes do patógeno devem ser consideradas no desenho do estudo. O ponto de atribuição da abordagem de subtipagem microbiana é o reservatório; o tipo de dados necessário é o de vigilância de alimentos, animais e humanos, com discriminação mínima de subtipagem; e o desfecho é a estimativa do número e proporção de casos atribuíveis a fontes específicas.

Abordagens epidemiológicas para atribuição de fontes se baseiam em dados do final da cadeia de transmissão, comumente disponíveis de infraestruturas de vigilância em saúde pública. Análises de dados de investigações de surtos foram realizadas com dados do Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Rio Grande do Sul. A confiabilidade dos dados utilizados depende da veracidade nas evidências empregadas para implicar uma fonte a um surto reportado (confirmação microbio ou epidemiológica), a captura ou não de alimentos e agentes incomuns (sensibilidade), e a presença ou não de surtos grandes ou difusos.



Os métodos diferem nas populações em que podem ser aplicados. Abordagem por subtipagem microbiana pode ser utilizada em nível nacional, atribuindo doenças por meio de dados de um país específico. Já a análise de dados de investigações de surtos pode ser empregada em regiões geográficas maiores, ou em países que possuem número suficiente de surtos reportados num dado período de tempo.

### 5.3.2 Características dos métodos

A maioria das abordagens de atribuição de fontes requer a estimação de parâmetros. A abordagem por subtipagem microbiana estima fatores sorovar e fonte-relacionados. Os métodos estimam incerteza em torno das estimativas (em proporções) com intervalos de confiança ou credibilidade de 95% por técnicas Bayesianas.

Pré-requisitos diferem entre os modelos desenvolvidos. A identificação por tipagem microbiana de patógenos distribuídos de maneira heterogênea entre as fontes permite a identificação de clonalidades e a aplicação do modelo de classificação bayesiano. A aplicação desta metodologia tem sido realizada com sucesso a subtipos de *Salmonella* e *Listeria monocytogenes* (LITTLE et al., 2010), mas com dificuldade a *Campylobacter*, em que o uso de MLST (*multi locus sequece typing*) surge como alternativa (MUELLNER et al., 2011). Presume-se que todos os casos por subtipos únicos de patógenos se originem em apenas uma fonte. Caso subtipos isolados em apenas uma fonte podem na verdade originar de outras fontes, de onde eles não eram isolados devido à sensibilidade dos sistemas de vigilância, a importância dessas fontes não identificadas na carga de salmonelose pode ser subestimada.

Agentes frequentemente causadores de surtos capturados pelos sistemas de relatórios de vigilâncias são necessários para aplicação de classificadores, e o nível de discriminação diagnóstica varia conforme questões de saúde a serem respondidas. A importância relativa de fontes de surtos pode ser extrapolada para doenças esporádicas com o uso do número de surtos na análise, e equivale a considerar que um caso por surto corresponde a um caso esporádico, minimizando o risco de superestimar a importância de algumas fontes (por exemplo, aquelas associadas a grandes surtos, mas que raramente causam doenças esporádicas).

Estimativas para fontes comuns foram comparadas entre os modelos e levaram em conta as diferenças nos períodos e populações em risco, fontes investigadas e o ponto de atribuição da abordagem. A Tabela 2 apresenta ponto de atribuição, população, período, fontes incluídas e desfechos para os métodos utilizados. Vale

ressaltar que o denominador das proporções estimadas não foi o mesmo nos métodos, e apenas a análise de surtos atribuiu parte dos surtos reportados a uma fonte desconhecida, atribuindo a parte remanescente dos surtos em humanos a fontes.

Os resultados obtidos pelos modelos de subtipagem microbiana desenvolvidos para atribuição de salmonelose humana no RS refletem o cenário encontrado pelos relatórios de investigações de surtos das últimas duas décadas e apresentam sinais de mudança na epidemiologia de *Salmonella* não tifoidal com a inclusão de dados mais recentes e de vigilância hospitalar. Pela falta de estudos de atribuição de fontes no país e no continente sul-americano, comparações se limitam aos países da Europa e América do Norte, mas devem ser feitas com parcimônia.

Há 30 anos, as infecções por *Salmonella* Enteritidis em humanos aumentaram em ambos os lados do oceano Atlântico. Os dados de vigilância de *Salmonella* da OMS para 1979-87 foram revisados e mostraram que a *S. Enteritidis* aumentou pelo menos nos continentes da América do Norte (WRIGHT et al., 2016), América do Sul e Europa. Os isolados de *S. Enteritidis* aumentaram em 24 (69%) de 35 países entre 1979 e 1987. Em 1979, apenas dois (10%) de 21 países com dados relataram *S. Enteritidis* como seu sorotipo de *Salmonella* mais comum; em 1987, 9 (43%) de 21 países relataram *S. Enteritidis* como seu sorotipo mais comum; 8 (89%) dos 9 eram países europeus. Embora a razão para o aumento global ainda não estivesse clara na época, investigações em países individuais sugeriram relação ao consumo de ovos e aves que abrigam o microorganismo (RODRIGUE; TAUXE; ROWE, 1990). Por meio de um modelo estocástico, De Knegt *et al.* (2015) atribuíram salmonelose não tifoidal humana transmitida por alimentos a reservatórios em 24 países da União Européia no período de 2007 a 2009 e poedeiras foram identificadas como o reservatório mais importante (DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b).

Dados epidemiológicos da Inglaterra, País de Gales e Estados Unidos indicam que a *S. Enteritidis* preencheu o nicho ecológico desocupado pela erradicação de *S. Gallinarum* das aves, levando a um aumento das infecções humanas. Essa hipótese foi testada através de análise retrospectiva de levantamentos epidemiológicos na Alemanha e foi demonstrado que o número de casos humanos de *S. Enteritidis* está inversamente relacionado à prevalência de *S. Gallinarum* em aves domésticas. Modelos matemáticos combinando a epidemiologia com a biologia populacional sugerem que *S. Gallinarum* excluiu competitivamente *S. Enteritidis* de granjas de aves no início do século XX. (RABSCH et al., 2000). A fim de fornecer uma avaliação compreensiva dos riscos

multidimensionais relacionados aos alimentos, questões relevantes adicionais devem ser incluídas, tais como interações entre ecologia microbiana, uso de antibióticos em frangos (que pode alterar a ecologia microbiana tanto nas galinhas como nos consumidores) e o efeito de outros programas de controle de doenças. Incentivos econômicos a criadores de frangos de corte e suínos, competição entre produtores de frangos e suínos em larga escala verticalmente integrados, expectativas de “barato” e microbiologicamente seguro por parte dos consumidores, e preços de combustíveis fósseis também devem ser considerados por gestores na tomada de decisões no combate a patógenos transmissíveis por alimentos.

A importância decrescente de *G. gallus* tem sido observada mais recentemente na maioria dos países europeus, desde a implementação de novas medidas de controle nas granjas de frangos (por exemplo, introdução de vacinas vivas), higiene melhorada, e educação de consumidores e manipuladores de alimentos (HENDRIKSEN et al., 2011), especialmente depois da implementação dos programas de controle nacionais de *Salmonella* em frangos de acordo com o Regulamento da União Européia No. 2016/2003. Nos Estados Unidos, após examinar tendências em surtos de DTA por *S. Enteritidis* de 1979 a 2009, Wright *et al.* (2016) encontraram resultados que sugerem que intervenções iniciadas nos anos 90 para conter o crescimento de *S. Enteritidis* em ovos foram essenciais para prevenir surtos posteriores (WRIGHT et al., 2016).

Seguindo a lógica de mudança de nicho ecológico das salmonelas ave-específicas para *S. Enteritidis*, tem se especulado que *S. Typhimurium* possa ser o sorovar emergente do momento. Há evidências crescentes que porcos desempenham um papel primordial como fontes de salmonelose humana, pelo menos na União Européia, e que a via de transmissão mais provável seja a má manipulação e o consumo de porcos contaminados (MUGHINI-GRAS et al., 2014a). Assim como aves são os reservatórios prováveis de *S. Enteritidis*, suínos são o reservatório mais provável de *S. Typhimurium* (DE KNEGT; PIRES; HALD, 2015b), além de sua variante monofásica 4,[5], 12:i:- e *S. Derby* (HOELZER; SWITT; WIEDMANN, 2011). *S. Typhimurium* parece estar mais relacionada com casos hospitalizados (Figura 6), mesmo que seu fator sorovar-dependente se aproxime de *S. Enteritidis* (Tabela 9). *S. Typhimurium* deve ser, se possível, monitorada, incluindo sua variante monofásica e seus níveis de resistência a antimicrobianos, bem como outros sorovares emergentes de *Salmonella*, tais como *S. Infantis* e *S. Newport*.

Nas sub-análises de surtos, a contribuição relativa em proporções das principais fontes de origem animal à salmonelose humana variaram entre os períodos agregados e mesoregiões sul-riograndenses. A abordagem atribuiu doenças em humanos no ponto de exposição. Ovos foram estimados como sendo a fonte mais importante de salmonelose em todos os períodos e mesoregiões, com tendência ao declínio na série temporal. Essa fonte foi levemente mais importante fora do domicílio indicando que práticas comerciais de armazenamento e preparos podem estar associadas. Pires (2009) (PIRES, 2009) obteve resultados semelhantes aos do nosso estudo, a partir da análise de surtos da vigilância europeia considerando 26 países (EFSA). A importância relativa das fontes de *Salmonella* não diferiu substancialmente nas diferentes localidades, e apenas vegetais e galinha foram estimados como causas em uma proporção levemente maior fora do domicílio.

Ambas as abordagens de atribuição de fontes desenvolvidas foram coerentes na estimativa de ovos como uma das mais importantes fontes de salmonelose humana. Enquanto a abordagem de subtipagem microbiana atribuiu cerca de 40% dos casos notificados no Rio Grande do Sul a esta fonte, a abordagem de análise de surtos atribuiu entre 38 e 25% das doenças ao consumo de ovos na série temporal. Nossos resultados são corroborados por resultados de outros estudos de atribuição, que têm atribuído 22% (IC 95% 11-54%) e até 43% (*S. Enteritidis*) de infecções por *Salmonella* a ovos (GREIG; RAVEL, 2009; HAVELAAR et al., 2008).

A abordagem microbiológica investigou a importância relativa dos produtos oriundos de outros estados brasileiros, enquanto que as abordagens epidemiológicas agruparam os alimentos estaduais e “importados” ao reservatório específico. Ao estimar a proporção relativa de suínos “importados” e domésticos por abordagens microbiológicas foi identificada uma cadeia potencial (por exemplo, Santa Catarina) para foco de mitigação de salmonelose, considerando seu caráter emergente e sorovares associados. A carne suína doméstica (Rio Grande do Sul) foi uma importante fonte secundária de infecções por *Salmonella*, enquanto a abordagem epidemiológica atribuiu uma proporção crescente de casos ao consumo desta fonte (sem distinção de origem).

Métodos epidemiológicos atribuem doença no ponto de exposição, e uma maior probabilidade de cozimento adequado de carne de porco, ao contrário de outros alimentos, já não pode explicar a estimativa da importância crescente dessa fonte, quando estimada no final da cadeia alimentar. Por exemplo, o fator fonte-dependente da carne suína foi o menor entre as fontes (Tabela 9), demonstrando uma baixa capacidade

de veiculação de *Salmonella*. Por outro lado, o consumo crescente desta fonte e as proporções dos diferentes sorovares de *Salmonella* nela podem estar influenciando os resultados encontrados. Um estudo de atribuição de fonte anterior com base em dados de surtos estimou uma proporção de salmonelose atribuível à carne de porco (<7%) semelhante ao primeiro período analisado no RS (GREIG; RAVEL, 2009), enquanto elicitções de especialistas, como a abordagem microbiológica e as análises de surtos dos últimos dois períodos agregados, têm atribuído uma proporção maior desta fonte (14%, IC 95% 6-36%) (HAVELAAR et al., 2008).

As abordagens epidemiológicas atribuíram uma proporção importante de salmonelose ao consumo de vegetais, que apresentou um menor peso *a priori* como causa de surtos por alimentos simples e não foi contemplado na abordagem microbiológica. Os nossos resultados da análise de surtos destacam uma importância das categorias de alimentos não animais, por exemplo, vegetais. Os resultados sugerem que entre 17% e 23% dos casos de salmonelose são atribuídos a essa fonte. Estudos anteriores sugeriram que frutas e legumes são fontes potenciais de *Salmonella*. Havelaar et al. (2008) (HAVELAAR et al., 2008) estimaram que 6% (IC 95% 0-6%) da carga de salmonelose é atribuída a essas fontes, e resultados da análise de dados mundiais de investigações de surtos sugeriram que até 21% das infecções por *Salmonella* são atribuíveis a essa fonte (GREIG; RAVEL, 2009), corroborando nossos resultados. Da Silva-Felício et al. (2015) encontraram como combinações das mais importantes entre alimentos (prontos para o consumo sem processamento de origem não-animal) e patógenos, *Salmonella* spp. e folhas verdes ingeridas cruas, seguida de (em igual grau) *Salmonella* spp. e vegetais de bulbos e caules, *Salmonella* spp. e tomates, e *Salmonella* spp. e melões (DA SILVA FELÍCIO et al., 2015). Entretanto, deve se ter em mente o acompanhamento dos ovos no declínio em importância, provavelmente pela construção da matriz de ingredientes com a inclusão de vegetais na elaboração de maionese caseira (por exemplo, batatas).

Este estudo não considerou outras rotas de infecção de *Salmonella* para atribuir doenças na comunidade sul-riograndense, como por exemplo, casos relacionados a viagens e contaminações por contato direto. Enquanto a primeira via pode ser estimada no momento que as investigações de casos esporádicos e surtos contemplarem essa informação, a segunda via pode ser acessada por avaliação de exposição comparativa. Por outro lado, revisão sistemática de estudos de caso-controle, outra abordagem epidemiológica, pode subestimar a importância de viajar e atribuir casos a outras

exposições incluídas nos questionários, como contato-direto, por exemplo, com animais domésticos, e fontes ambientais (PIRES, 2009). Ou seja, há a necessidade de consideração de fontes adicionais e rotas de transmissão. No entanto, abordagens que atribuem ao reservatório tradicionalmente não incluem frutos, que não são considerados como reservatório, e assumem que os casos por estas rotas de transmissão são atribuídos à fonte original do patógeno (o reservatório animal do qual a contaminação de vegetais e meio ambiente derivaram). Essas diferenças devem ser consideradas ao escolher uma abordagem de atribuição de fontes, dependendo das diferentes questões de saúde pública a serem abordadas.

A integração de métodos de atribuição de fontes permitirá a obtenção de métodos mais completos e estimativas robustas. Várias sinergias podem ser aplicadas, tanto entre abordagens microbiológicas como entre abordagens microbiológicas e epidemiológicas. Uma possibilidade seria construir uma estrutura de avaliação de exposição comparativa com base nas estimativas obtidas pela subtipagem microbiana. Em outras palavras, a importância relativa das diferentes rotas de transmissão dentro dos reservatórios seria ponderada pela proporção de doença atribuída a esse reservatório pela subtipagem microbiana. Também seria possível realizar uma avaliação de exposição comparativa incluindo rotas de apenas um reservatório (estimado como importante pela subtipagem microbiana), com o propósito de investigar qual rota de transmissão está contribuindo mais para a exposição àquele reservatório. Uma avaliação de exposição comparativa também poderia incorporar dados de subtipagem, distinguindo entre subtipos do patógeno e, assim, estimar a importância relativa das vias de infecção por diferentes subtipos.

Um exemplo de integração de abordagens microbiológicas e epidemiológicas poderia ser a sinergia entre subtipagem microbiana e revisão sistemática de estudos de caso-controle. Este último fornece uma imagem dos importantes fatores de risco, rotas de transmissão ou fontes, e estes resultados podem ser usados como ponto de partida para exercícios de subtipagem microbiana. Uma abordagem por subtipagem microbiana também pode ser aplicada a subgrupos específicos da população, estimados em maior risco por revisão sistemática de estudos de caso-controle. A integração de estudos de caso-controle com uma análise de dados de investigações de surtos tem sido explorada no Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC), em Atlanta, EUA.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dois métodos implementados para atribuição de salmonelose humana, ao fazer uso de dados e premissas diferentes, possuem vantagens e limitações inerentes às quais devem ser levadas em conta na interpretação das estimativas. A vigilância integrada de *Salmonella* no RS nos permitiu monitorar sua ocorrência na cadeia alimentar e entender melhor algumas de suas fontes. Ainda há desafios como a falta de dados mais oportunos e representativos, limiares para ação e resposta, e infraestrutura para a sustentabilidade e crescimento do controle de *Salmonella*. Maior vontade política e outros recursos são necessários para expandir o programa para outras fontes de *Salmonella* e outros patógenos transmitidos por alimentos e, assim, permitir a atribuição de doenças humanas a fontes de animais/alimentos e identificação de patógenos emergentes na cadeia alimentar, a fim de realmente reduzir o impacto das DTA.

Um dos méritos deste trabalho foi a implementação do código de subtipagem microbiana no pacote estatístico R (pacotes rjags e coda). Recentemente, sourceR, um pacote para quantificação de atribuição de fontes também foi disponibilizado, e sua atualização visa modelar correlações espaçotemporais e detectar a evolução de subtipos bacterianos virulentos por meio de análise de clusters dos parâmetros sorovar-dependentes (MILLER et al., 2017). Iniciativas desta natureza contribuem para a popularização de estudos de atribuição de fontes.

É possível definir subtipos bacterianos com o uso de métodos de genotipagem relativamente rápidos, como o *Multilocus Sequence Typing* (MLST), uma alternativa ao modelo de correspondência de frequências. Uma sequência MLST é uma combinação de alelos em locos gênicos especificados, localizados em regiões conservadas do genoma. O conjunto de dados para a análise consiste no genótipo MLST dominante, isolado de cada fonte (alimentar e ambiental) e amostra humana. No modelo de ilha assimétrica, por exemplo, os processos evolutivos (mutação, migração e recombinação) dos tipos de sequência são modelados para inferir probabilisticamente a fonte de cada infecção humana usando dados genéticos de cada subtipo. A informação extra na tipagem genética permite que o modelo atribua casos humanos de tipos não observados comumente a uma provável fonte de infecção, comparando a semelhança genética com outros tipos observados nas fontes. Isto não é possível usando o algoritmo Hald (e modelos modificados de Hald). Como o modelo de ilha requer dados de sequência, ele

não pode ser usado para atribuição de fonte em que a subtipagem é baseada em características fenotípicas, como o sorotipo.

Na ausência de dados fenotípicos ou genotípicos advindos de vigilâncias de doenças bacterianas, os quais são demorados e onerosos, uma alternativa razoável pode ser a elicitación por especialistas, reconhecida globalmente. Por depender de interpretações subjetivas por um grupo de especialistas, o maior desafio é manter o processo transparente e aceitável a um grande grupo de gestores. Métodos de síntese de pesquisa podem fornecer maneiras de conectar lacunas na literatura e nos dados referentes ao conhecimento de doenças transmitidas por alimentos entre diferentes regiões e situações epidemiológicas, possibilitando comparações com base informativa mais sólida.

Embora a atribuição de fontes forneça evidências que possam apoiar estratégias para reduzir o ônus de vários patógenos transmitidos por alimentos, a transmissão e propagação de patógenos com resistência a antimicrobianos adicionam uma camada extra de complexidade à segurança de alimentos. Praticamente qualquer patógeno transmitido por alimentos pode adquirir resistência a antimicrobianos, o que pode levar a doenças prolongadas e mais graves e até mesmo a risco de vida, quando a terapia antimicrobiana é necessária, mas não consegue ser efetiva devido à resistência ao medicamento prescrito. A transferência potencial de genes de resistência a antimicrobianos entre bactérias patogênicas e comensais no intestino humano pode amplificar o impacto na saúde pública da resistência a antimicrobianos de origem alimentar. Como consequência, não é apenas difícil estimar o risco direto representado por patógenos resistentes de DTA, mas também quantificar a contribuição relativa para o risco da transferência de genes de resistência a antimicrobianos, por exemplo, de comensais provenientes de reservatórios de animais para patógenos humanos. Apenas poucos estudos têm aplicado métodos de atribuição de fontes no contexto de resistência a antimicrobianos, e a importância de vias de transmissão de resistência a antimicrobianos permanece como uma lacuna importante de conhecimento. Propõem-se esforços no manejo de riscos neste contexto, por meio de uso das técnicas de atribuição de fontes existentes.



## REFERÊNCIAS

- AAKER, David A.; KUMAR, Vinay; DAY, George S. Coleta de informações: Métodos qualitativo e de observação. In: **Pesquisa de Marketing**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atlas, 2001. p. 756.
- ACHA, Pedro N.; SZYFRES, Boris. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals: Volume I. Bacterioses and mycoses**. 3rd. ed. Washington. D.C.: PAHO, 2001.
- ADAK, Goutam K. et al. Disease risks from foods, England and Wales, 1996-2000. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 11, n. 3, p. 365–372, 2005.
- AHLSTROM, C. et al. Inferring source attribution from a multiyear multisource data set of Salmonella in Minnesota. **Zoonoses and Public Health**, Berlim, v. 64, n. 8, p. 589–598, 2017.
- AMATO-GAUCI, A.; AMMON, A. The surveillance of communicable diseases in the European Union--a long-term strategy (2008-2013). **Euro surveillance: bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin**, Stockholm, v. 13, n. 26, 2008.
- ANONYMOUS. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação: normas e rotinas. Série A. Normas e Manuais Técnicos**. 2<sup>a</sup> ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2006.
- ANONYMOUS. Report from the Task Force on Zoonoses Data Collection on harmonising the reporting of food-borne outbreaks through the Community reporting system in accordance with Directive 2003/99/EC. **EFSA Journal**, Parma, v. 123, p. 1–16, 2007.
- ARNOLD, M. E. et al. Estimation of the Rate of Egg Contamination from Salmonella-Infected Chickens. **Zoonoses and Public Health**, Berlim, v. 61, n. 1, p. 18–27, 2014.
- BABO MARTINS, S.; RUSHTON, J.; STÄRK, K. D. C. Economics of zoonoses surveillance in a ‘One Health’ context: an assessment of Campylobacter surveillance in Switzerland. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 145, n. 6, p. 1148–1158, 2017.
- BAGGESEN, D. L. et al. Phage typing of Salmonella Typhimurium - is it still a useful tool for surveillance and outbreak investigation? **Eurosurveillance**, Stockholm, v. 15, n. 4, p. pii:19471, 2010.
- BAKER, Michael G. et al. A recurring salmonellosis epidemic in New Zealand linked to contact with sheep. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 135, n. 1, p. 76–83, 2007.
- BARCO, Lisa et al. Ascertaining the relationship between Salmonella Typhimurium and Salmonella 4,[5],12:i:- by MLVA and inferring the sources of human salmonellosis due to the two serovars in Italy. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 6, n. 301, p. 1–10, 2015.
- BATZ, Michael B. et al. Attributing illness to food. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 11, n. 7, p. 993–999, 2005.

BENEDICTUS, A.; HOGEVEEN, H.; BERENDS, B. R. The price of the precautionary principle: Cost-effectiveness of BSE intervention strategies in the Netherlands. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 89, n. 3–4, p. 212–222, 2009.

BERTRAND, SOPHIE et al. Lessons Learned from the Management of a National Outbreak of Salmonella Ohio Linked to Pork Meat Processing and Distribution. **Journal of Food Protection**, Des Moines, IA, v. 73, n. 3, p. 529–534, 2010.

BOLSTAD, William M. **Introduction to Bayesian Statistics**. 2nd. ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2007.

BOYSEN, L. et al. Source attribution of human campylobacteriosis in Denmark. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 142, n. 8, p. 1599–1608, 2014.

BRANSCUM, A. J.; GARDNER, I. A.; JOHNSON, W. O. Estimation of diagnostic-test sensitivity and specificity through Bayesian modeling. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 68, n. 2–4, p. 145–163, 2005.

BRASIL. **Controle de Patógenos**. 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/control-de-patogenos>>. Acesso em: 5 fev. 2019.

BRUL, Stanley; FRATAMICO, Pina M.; MCMEEKIN, Tom A. **Tracing Pathogens in the Food Chain**. 1st. ed. Sawston, UK: Woodhead Publishing, 2011.

BRUUN, T. et al. An outbreak of Salmonella Typhimurium infections in Denmark, Norway and Sweden, 2008. **Euro surveillance : bulletin européen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin**, Stockholm, v. 14, n. 10, p. pii:19147, 2009.

BUNCIC, S. Characteristics of the food chain and associated hazards. In: **Integrated food safety and veterinary public health**. Wallingford, Oxfordshire: CABI, 2006. p. 398.

CAMINO FELTES, Maria Manuela; ARISSETO-BRAGOTTO, Adriana Pavesi; BLOCK, Jane Mara. Food quality, food-borne diseases, and food safety in the Brazilian food industry. **Food Quality and Safety**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 13–27, 2017.

CARMO, Greice Madeleine Ikeda Do et al. Vigilância Epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999 - 2004. **Boletim eletrônico epidemiológico**, Brasília, v. 5, n. 6, p. 1–7, 2005.

CASSIN, Michael H. et al. Quantitative risk assessment for Escherichia coli O157:H7 in ground beef hamburgers. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 41, n. 1, p. 21–44, 1998.

CASTAGNA, S. M. F. et al. Prevalência de suínos portadores de Salmonella sp. Ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, n. 2, p. 141–147, 2004.

CHENG, Hui G.; PHILLIPS, Michael R. Secondary analysis of existing data: opportunities and implementation. **Shanghai Archives of Psychiatry**, Shanghai, v. 26, n. 6, p. 371–375, 2014.

CODEX ALIMENTARIUS. **Principles and Guidelines for the Conduct of Microbiological Risk Assessment**. 1999. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/y1579e/y1579e05.htm>>.

COSTALUNGA, Suzana; TONDO, Eduardo Cesar. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil, 1997 to 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 4, p. 342–346, 2002.

DA SILVA FELÍCIO, M. T. et al. Risk ranking of pathogens in ready-to-eat unprocessed foods of non-animal origin (FoNAO) in the EU: Initial evaluation using outbreak data (2007-2011). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 195, p. 9–19, 2015.

DA SILVA, LUIS EDUARDO et al. Longitudinal Dissemination of Salmonella enterica Clonal Groups through the Slaughter Process of Salmonella-Positive Pig Batches. **Journal of Food Protection**, Des Moines, IA, v. 75, n. 9, p. 1580–1588, 2012.

DALE, Julia et al. Epidemiological tracking and population assignment of the non-clonal bacterium, burkholderia pseudomallei. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, CA, v. 5, n. 12, p. e1381, 2011.

DAVID, J. M. et al. Attribution of the French human Salmonellosis cases to the main food-sources according to the type of surveillance data. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 110, n. 1, p. 12–27, 2013. a.

DAVID, J. M. et al. The bayesian microbial subtyping attribution model: Robustness to prior information and a proposition. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 33, n. 3, p. 397–408, 2013. b.

DE JONG, Birgitta; EKDAHL, Karl. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. **BMC Public Health**, London, v. 6, n. 4, p. 1–9, 2006.

DE KNEGT, Leonardo Victor. **A multi-country approach for attributing human salmonellosis to animal reservoirs: Global prespectives and application of surveillance data from the European Union**. 2013. Technical University of Denmark, Lyngby, 2013.

DE KNEGT, L. V.; PIRES, S. M.; HALD, T. Using surveillance and monitoring data of different origins in a Salmonella source attribution model: A European Union example with challenges and proposed solutions. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 143, n. 6, p. 1148–1165, 2015. a.

DE KNEGT, L. V.; PIRES, S. M.; HALD, T. Attributing foodborne salmonellosis in humans to animal reservoirs in the European Union using a multi-country stochastic model. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 143, n. 6, p. 1175–1186, 2015. b.

DE KNEGT, Leonardo V. et al. Application of Molecular Typing Results in Source Attribution Models: The Case of Multiple Locus Variable Number Tandem Repeat Analysis (MLVA) of Salmonella Isolates Obtained from Integrated Surveillance in Denmark. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 36, n. 3, p. 571–588, 2016.

DEARLOVE, Bethany L. et al. Rapid host switching in generalist Campylobacter

strains erodes the signal for tracing human infections. **ISME Journal**, London, v. 10, n. 3, p. 721–729, 2016.

DIDELLOT, Xavier; FALUSH, Daniel. Inference of bacterial microevolution using multilocus sequence data. **Genetics**, Baltimore, MD, v. 175, n. 3, p. 1251–1266, 2007.

DOHOO, I. R. et al. The use of multilevel models to evaluate sources of variation in reproductive performance in dairy cattle in Reunion Island. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 50, n. 1–2, p. 127–144, 2001.

DOHOO, Ian; MARTIN, Wayne; STRYHN, Henrik. **Veterinary Epidemiologic Research**. 2nd. ed. Charlottetown: VER Incorporated, 2009.

DOMINGUES, A. R. et al. Source attribution of human salmonellosis using a meta-analysis of case-control studies of sporadic infections-Systematic Review. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 140, n. 6, p. 959–969, 2012.

DOS SANTOS, Diego Viali; HEIN, Héber Eduardo; MACHADO, Gustavo. **Análise do ingresso de animais de produção e seus produtos no estado do Rio Grande do Sul no ano de 2011**. Porto Alegre. Disponível em: <<https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/25103715-see-artigo-14analise-do-ingresso-de-animais-de-producao-e-seus-produtos-no-estado-do-rio-grande-do-sul-no-ano-de-2011.pdf>>.

DOYLE, M. P.; ERICKSON, M. C. Emerging microbiological food safety issues related to meat. **Meat Science**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 98–112, 2006.

EBEL, Eric D. et al. Simplified framework for predicting changes in public health from performance standards applied in slaughter establishments. **Food Control**, Amsterdam, v. 28, n. 2, p. 250–257, 2012.

EFSA. General principles for the collection of national food consumption data in the view of a pan-European dietary survey. **EFSA Journal**, Parma, v. 7, n. 12, p. 1435, 2009.

EFSA. Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (swine). **EFSA journal**, Parma, v. 9, n. 10, p. 2351, 2011.

EFSA. Scientific Opinion on the public health hazards to be covered by inspection of meat (bovine animals). **EFSA Journal**, Parma, v. 11, n. 6, p. 3266, 2013.

EUROPEAN PARLIAMENT. **Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and of the Council Official Journal of the European Communities**. Brussels. Disponível em: <<http://www.europarl.europa.eu/document/activities/cont/201004/20100412ATT72508/20100412ATT72508EN.pdf>>.

EUROSURVEILLANCE EDITORIAL TEAM. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2010. **Euro surveillance : bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin**, Stockholm, v. 10, n. 3, p. 2597, 2012.

EXCOFFIER, Laurent; LAVAL, Guillaume; SCHNEIDER, Stefan. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis.

**Evolutionary bioinformatics online**, Auckland, v. 1, p. 47–50, 2005.

FAO/WHO. Risk management and food safety. Report of a joint FAO/WHO consultation. **FAO Food and Nutrition Paper**, Rome, v. 65, p. 32, 1997.

FDA. **Food Safety: Importance for At-Risk Groups**. 2019. Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/people-risk-foodborne-illness/food-safety-importance-risk-groups>>. Acesso em: 31 mar. 2019.

FIGUEIREDO, Denise Maria Silva et al. Programa de Vigilância Epidemiológica das Doenças de Transmissão Hídricas e Alimentares - VE-DTHA. **Boletim Epidemiológico**, Porto Alegre, v. 15, n. 3, p. 5–8, 2013.

FLOCKHART, L. et al. Distribution of Salmonella in Humans, Production Animal Operations and a Watershed in a FoodNet Canada Sentinel Site. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 64, n. 1, p. 41–52, 2017.

FORDE, Martin et al. Strengthening integrated research and capacity development within the Caribbean region. **BMC International Health and Human Rights**, London, v. 11, n. 2, p. S7, 2011.

FORSYTHE, S. J. **The microbiology of safe food**. 2nd. ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2007.

FRANZ, Eelco; GRAS, Lapo Mughini; DALLMAN, Tim. Significance of whole genome sequencing for surveillance, source attribution and microbial risk assessment of foodborne pathogens. **Current Opinion in Food Science**, Amsterdam, v. 8, p. 74–79, 2016.

FRIESEMA, Ingrid H. M. et al. Poultry culling and campylobacteriosis reduction among humans, The Netherlands. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 18, n. 3, p. 466–468, 2012.

FULLERTON, Kathleen E. et al. Case-Control Studies of Sporadic Enteric Infections: A Review and Discussion of Studies Conducted Internationally from 1990 to 2009. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 9, n. 4, p. 281–292, 2012.

GEBREYES, W. A.; ALTIER, C.; THAKUR, S. Molecular epidemiology and diversity of Salmonella serovar typhimurium in pigs using phenotypic and genotypic approaches. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 134, n. 1, p. 187–198, 2006.

GEBREYES, W. A.; THAKUR, S. Phenotypic subtyping of foodborne pathogens. In: **Tracing Pathogens in the Food Chain**. Sawston, UK ; Cambridge, UK: Woodhead Publishing, 2011. p. 141–156.

GELMAN, Andrew; RUBIN, Donald B. Inference from Iterative Simulation Using Multiple Sequences. **Statistical Science**, Hayward, CA, v. 7, n. 4, p. 457–472, 1992.

GILKS, R.; RICHARDSON, Sylvia; SPIEGELHALTER, David J. **Markov Chain Monte Carlo in Practice: Interdisciplinary Statistics**. London: Chapman and Hall/CRC, 1996.

GLASS, K. et al. Bayesian Source Attribution of Salmonellosis in South Australia. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 36, n. 3, p. 561–570, 2016.

GREEN, Laura R. et al. Beliefs about Meals Eaten Outside the Home as Sources of Gastrointestinal Illness. **Journal of Food Protection**, Des Moines, IA, v. 68, n. 10, p. 2184–2189, 2005.

GREIG, J. D.; RAVEL, A. Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 130, n. 2, p. 77–87, 2009.

GRIMONT, Patrick PAD; WEILL, FX François-Xavier. **Antigenic formulae of the Salmonella serovars** WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella Paris Institut Pasteur, , 2007.

GUO, Chuanfa et al. Application of Bayesian Techniques to Model the Burden of Human Salmonellosis Attributable to U.S. Food Commodities at the Point of Processing: Adaptation of a Danish Model. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 8, n. 4, p. 509–516, 2011.

HALD, Tine et al. A Bayesian Approach to Quantify the Contribution of Animal-Food Sources to Human Sahnnonellosis. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 24, n. 1, p. 255–269, 2004.

HALD, Tine; LO FO WONG, Danilo M. A.; AARESTRUP, Frank M. The Attribution of Human Infections with Antimicrobial Resistant Salmonella Bacteria in Denmark to Sources of Animal Origin. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 4, n. 3, p. 313–326, 2007.

HÄSLER, Barbara; HOWE, Keith S.; STÄRK, Katharina Dc. Conceptualising the technical relationship of animal disease surveillance to intervention and mitigation as a basis for economic analysis. **BMC Health Services Research**, London, v. 11, n. 1, p. 225, 2011.

HAVELAAR, A. H. et al. Towards an integrated approach in supporting microbiological food safety decisions. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 54, n. 3–4, p. 103–117, 2007.

HAVELAAR, Arie H. et al. Attribution of Foodborne Pathogens Using Structured Expert Elicitation. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 5, n. 5, p. 649–659, 2008.

HENDRIKSEN, Rene S. et al. Global Monitoring of Salmonella Serovar Distribution from the World Health Organization Global Foodborne Infections Network Country Data Bank: Results of Quality Assured Laboratories from 2001 to 2007. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 8, n. 8, p. 887–900, 2011.

HEYNDRIKX, Marc et al. Recent changes in Salmonella nomenclature: the need for clarification. **The Veterinary Journal**, London, v. 170, n. 3, p. 275–277, 2005.

HOELZER, Karin; SWITT, Andrea Isabel Moreno; WIEDMANN, Martin. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. **Veterinary Research**, London, v. 42, n. 1, p. 34, 2011.

HOFFMANN, SANDRA et al. Using Expert Elicitation To Link Foodborne Illnesses in the United States to Foods. **Journal of Food Protection**, Des Moines, IA, v. 70, n. 5, p. 1220–1229, 2007.

HOFFMANN, Sandra; BATZ, Michael B.; MORRIS, J. Glenn. Annual cost of illness and quality-adjusted life year losses in the united states due to 14 foodborne pathogens. **Journal of Food Protection**, Des Moines, IA, v. 75, n. 7, p. 1292–1302, 2012.

HOLT, J. H. et al. **Bergey's manual of determinative bacteriology ninth edition**. 9th. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.

HOX, Joop J.; BOEIJE, Hennie R. Data Collection, Primary vs. Secondary. In: **Encyclopedia of Social Measurement**. Amsterdam: Elsevier, 2005. v. 1p. 593–599.

KICH, Jalusa D. et al. Prevalence, distribution, and molecular characterization of Salmonella recovered from swine finishing herds and a slaughter facility in Santa Catarina, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 151, n. 3, p. 307–313, 2011.

KING, Ruth et al. **Bayesian analysis for population ecology**. 1st. ed. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC, 2009.

KINGSLEY, Robert A.; BÄUMLER, Andreas J. Host adaptation and the emergence of infectious disease: The Salmonella paradigm. **Molecular Microbiology**, Oxford, OX ; Boston, MA, v. 36, n. 5, p. 1006–1014, 2000.

KIRK, Martyn D. et al. World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. **PLoS Medicine**, San Francisco, CA, v. 12, n. 12, p. e1001921, 2015.

KITTL, Sonja et al. Source attribution of human Campylobacter isolates by MLST and Fla-typing and association of genotypes with quinolone resistance. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 8, n. 11, p. e81796, 2013.

KOVATS, R. S. et al. The effect of temperature on food poisoning: A time-series analysis of salmonellosis in ten European countries. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 132, n. 3, p. 443–453, 2004.

LAWSON, Andrew B. **Bayesian Disease Mapping: Hierarchical Modeling in Spatial Epidemiology**. 1st. ed. Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC, 2008.

LEE, Robin et al. Prevalence of high-risk egg-preparation practices in restaurants that prepare breakfast egg entrées: an EHS-Net study. **Journal of food protection**, Des Moines, IA, v. 67, n. 7, p. 1444–1450, 2004.

LENTZ, Silvia Adriana Mayer et al. Bacillus cereus as the main casual agent of foodborne outbreaks in Southern Brazil: data from 11 years. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 4, p. e00057417, 2018.

LITTLE, Christine L. et al. Attribution of Human Listeria monocytogenes Infections in England and Wales to Ready-to-Eat Food Sources Placed on the Market: Adaptation of the Hald Salmonella Source Attribution Model. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 7, n. 7, p. 749–756, 2010.

MAJOWICZ, Shannon E. et al. The Global Burden of Nontyphoidal Salmonella Gastroenteritis. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 50, n. 6, p. 882–889, 2010.

MESSENGER, Ali M.; BARNES, Amber N.; GRAY, Gregory C. Reverse zoonotic disease transmission (Zooanthroponosis): A systematic review of seldom-documented human biological threats to animals. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 9, n. 2, p. e89055, 2014.

MILLER, Poppy et al. sourceR: Classification and source attribution of infectious agents among heterogeneous populations. **PLoS Computational Biology**, San Francisco, CA, v. 13, n. 5, p. e1005564, 2017.

MØLBAK, Kåre; NEIMANN, Jakob. Risk factors for sporadic infection with salmonella enteritidis, Denmark, 1997-1999. **American Journal of Epidemiology**, Cary, NC, v. 156, n. 7, p. 654–661, 2002.

MOSSONG, Joël et al. Human Campylobacteriosis in Luxembourg, 2010-2013: A Case-Control Study Combined with Multilocus Sequence Typing for Source Attribution and Risk Factor Analysis. **Scientific Reports**, London, v. 6, p. 20939, 2016.

MUELLNER, P. et al. Utilizing a combination of molecular and spatial tools to assess the effect of a public health intervention. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 102, n. 3, p. 242–253, 2011.

MUGHINI-GRAS, L. et al. Increased risk for Campylobacter jejuni and C. coli infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 141, n. 12, p. 2526–2535, 2013.

MUGHINI-GRAS, L. et al. Attribution of human Salmonella infections to animal and food sources in Italy (2002-2010): Adaptations of the Dutch and modified Hald source attribution models. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 142, n. 5, p. 1070–1082, 2014. a.

MUGHINI-GRAS, L. et al. Attribution of human infections with Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) to livestock sources and identification of source-specific risk factors, The Netherlands (2010–2014). **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 65, n. 1, p. e8–e22, 2018.

MUGHINI-GRAS, Lapo et al. Tracing the sources of human salmonellosis: A multi-model comparison of phenotyping and genotyping methods. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 28, p. 251–260, 2014. b.

MUGHINI-GRAS, Lapo et al. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: A combined case-control and source attribution analysis. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 9, n. 2, p. e87933, 2014. c.

MUGHINI-GRAS, Lapo et al. Quantifying potential sources of surface water contamination with Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. **Water Research**, Oxford, v. 101, p. 36–45, 2016.

MUGHINI-GRAS, Lapo; FRANZ, Eelco; VAN PELT, Wilfrid. New paradigms for Salmonella source attribution based on microbial subtyping. **Food Microbiology**, London, v. 71, p. 60–67, 2018.

MUGHINI-GRAS, Lapo; HECK, M.; VAN PELT, W. Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the



Netherlands, 1985 to 2014. **Eurosurveillance**, Stockholm, v. 21, n. 34, p. 1–5, 2016.

MUGHINI-GRAS, Lapo; VAN PELT, Wilfrid. Salmonella source attribution based on microbial subtyping: Does including data on food consumption matter? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 191, p. 109–115, 2014.

MUGHINI GRAS, Lapo et al. Risk factors for campylobacteriosis of chicken, ruminant, and environmental origin: A combined case-control and source attribution analysis. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 7, n. 8, p. e42599, 2012.

MULLNER, Petra et al. Source attribution of food-borne zoonoses in New Zealand: A modified hald model. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 29, n. 7, p. 970–984, 2009. a.

MULLNER, Petra et al. Assigning the source of human campylobacteriosis in New Zealand: A comparative genetic and epidemiological approach. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 9, n. 6, p. 1311–1319, 2009. b.

MURPHREE, Rendi et al. Characteristics of foodborne disease outbreak investigations conducted by foodborne diseases active surveillance network (foodnet) sites, 2003-2008. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 54, n. Suppl 5, p. S498-503, 2012.

NEAL, Radford M. Suppressing random walks in Markov chain Monte Carlo using ordered overrelaxation. In: **Learning in Graphical Models**. Dordrecht: Springer, 1998. p. 205–228.

NEWELL, Diane G. et al. Food-borne diseases - The challenges of 20years ago still persist while new ones continue to emerge. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 139, n. Suppl 1, p. S3-15, 2010.

NIELSEN, Eva Møller et al. Closing gaps for performing a risk assessment on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat (RTE) foods: activity 3, the comparison of isolates from different compartments along the food chain, and from humans using whole genome sequencing (WGS) analysis. **EFSA Supporting Publications**, Parma, v. 14, n. 2, p. 1151E, 2017.

O'REILLY, C. E. et al. A Waterborne Outbreak of Gastroenteritis with Multiple Etiologies among Resort Island Visitors and Residents: Ohio, 2004. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 44, n. 4, p. 506–512, 2007.

ODEYEMI, Olumide A. Public health implications of microbial food safety and foodborne diseases in developing countries. **Food and Nutrition Research**, Lund, v. 60, p. 29819, 2016.

OECD. **Agricultural Policy Monitoring and Evaluation 2013**. Paris: OECD Publishing, 2013.

PAHO. Cholera in the Americas. **Bulletin of the Pan American Health Organization**, Washington. D.C., v. 25, n. 3, p. 267–273, 1992.

PAINTER, John A. et al. Recipes for Foodborne Outbreaks: A Scheme for Categorizing and Grouping Implicated Foods. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 6, n. 10, p. 1259–1264, 2009.

PAINTER, John A. et al. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths

to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 19, n. 3, p. 407–415, 2013.

PIRES, A. F. A.; FUNK, J. A.; BOLIN, C. Risk factors associated with persistence of Salmonella shedding in finishing pigs. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 116, n. 1–2, p. 120–128, 2014.

PIRES, S. M. **Attributing human salmonellosis and campylobacteriosis to food, animal and environmental sources**. 2009. Technical University of Denmark, Lyngby, 2009.

PIRES, Sara M. et al. Attributing the Human Disease Burden of Foodborne Infections to Specific Sources. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 6, n. 4, p. 417–424, 2009.

PIRES, Sara M. et al. Attributing human foodborne illness to food sources and water in Latin America and the Caribbean using data from outbreak investigations. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 152, n. 3, p. 129–138, 2012.

PIRES, Sara M. et al. Source Attribution of Human Salmonellosis: An Overview of Methods and Estimates. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 11, n. 9, p. 667–676, 2014.

PIRES, Sara M.; DUARTE, Ana Sofia; HALD, Tine. Source Attribution and Risk Assessment of Antimicrobial Resistance. **Microbiology Spectrum**, Washington. D.C., v. 6, n. 3, p. 1–17, 2018.

PIRES, Sara M.; HALD, Tine. Assessing the Differences in Public Health Impact of Salmonella Subtypes Using a Bayesian Microbial Subtyping Approach for Source Attribution. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 7, n. 2, p. 143–151, 2010.

PIRES, Sara Monteiro et al. Using Outbreak Data for Source Attribution of Human Salmonellosis and Campylobacteriosis in Europe. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 7, n. 11, p. 1351–1361, 2010.

PISSETTI, C. et al. Salmonella enterica and Listeria monocytogenes detection on pre-chill pig carcasses. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 40, n. 4, p. 1071, 2012.

POWELL, Douglas A.; JACOB, Casey J.; CHAPMAN, Benjamin J. Enhancing food safety culture to reduce rates of foodborne illness. **Food Control**, Kidlington, v. 22, n. 6, p. 817–822, 2011.

PRITCHARD, Jonathan K.; STEPHENS, Matthew; DONNELLY, Peter. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Baltimore, MD, v. 155, n. 2, p. 945–959, 2000.

RABINOWITZ, Peter M. et al. Toward proof of concept of a one health approach to disease prediction and control. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 19, n. 12, 2013.

RABSCH, Wolfgang et al. Competitive exclusion of Salmonella Enteritidis by

- Salmonella Gallinarum in poultry. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 6, n. 5, p. 443–448, 2000.
- RANTA, Jukka et al. Bayesian Temporal Source Attribution of Foodborne Zoonoses: Campylobacter in Finland and Norway. **Risk Analysis**, Malden, MA, v. 31, n. 7, p. 1156–1171, 2011.
- RIBEIRO, Aldemir Reginato et al. Salmonella spp. in raw broiler parts: Occurrence, antimicrobial resistance profile and phage typing of the Salmonella enteritidis isolates. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p. 569–573, 2007.
- RICHARDSON, LaTonia Clay et al. An Updated Scheme for Categorizing Foods Implicated in Foodborne Disease Outbreaks: A Tri-Agency Collaboration. **Foodborne Pathogens and Disease**, Larchmont, NY, v. 14, n. 12, p. 701–710, 2017.
- RODRIGUE, D. C.; TAUXE, R. V.; ROWE, B. International increase in Salmonella enteritidis: A new pandemic? **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 105, n. 1, p. 21–27, 1990.
- ROUX, Francois et al. Elucidating the Aetiology of Human Campylobacter coli Infections. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 8, n. 5, p. e64504, 2013.
- SALMAN, M. D. Surveillance and Monitoring Systems for Animal Health Programs and Disease Surveys. In: **Animal Disease Surveillance and Survey Systems**. 1st. ed. Ames: Blackwell Publishing Ltd, 2008. p. 3–13.
- SASSI, Franco. Calculating QALYs, comparing QALY and DALY calculations. **Health Policy and Planning**, Oxford, v. 21, n. 5, p. 402–408, 2006.
- SCALLAN, Elaine et al. Foodborne illness acquired in the United States-Major pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 17, n. 1, p. 7–15, 2011.
- SCHELLING, E.; HATTENDORF, J. One Health study designs. In: **One Health: the theory and practice of integrated health approaches**. 1st. ed. Wallingford, Oxfordshire: CABI, 2015. p. 107–121.
- SCHLUNDT, Jørgen. Comparison of microbiological risk assessment studies published. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 197–202, 2000.
- SCHWABE, Calvin W. **Veterinary Medicine and Human Health**. London: Baillière, Tindall & Cassell, 1969.
- SEARS, Ann et al. Marked campylobacteriosis decline after interventions aimed at poultry, New Zealand. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, GA, v. 17, n. 6, p. 1007–1015, 2011.
- SHEPPARD, Samuel K. et al. Campylobacter Genotyping to Determine the Source of Human Infection. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 48, n. 8, p. 1072–1078, 2009.
- SMID, Joost H. et al. Practicalities of Using Non-Local or Non-Recent Multilocus Sequence Typing Data for Source Attribution in Space and Time of Human Campylobacteriosis. **PLoS ONE**, San Francisco, CA, v. 8, n. 2, p. e55029, 2013.

- SMITH, A. F. M.; GELFAND, A. E. Bayesian statistics without tears: A sampling-resampling perspective. **The American Statistician**, Abingdon, v. 46, n. 2, p. 84–88, 1992.
- STRACHAN, N. J. C. et al. Source attribution, prevalence and enumeration of *Campylobacter* spp. from retail liver. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 153, n. 1–2, p. 234–236, 2012.
- STRACHAN, Norval J. C. et al. Attribution of *Campylobacter* Infections in Northeast Scotland to Specific Sources by Use of Multilocus Sequence Typing. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, IL, v. 199, n. 8, p. 2105–2108, 2009.
- TAUXE, R. V. et al. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 139, n. Suppl 1, p. S16–28, 2010.
- TODESCHINI, B. et al. Occurrence of bovine brucellosis and tuberculosis in Rio Grande do Sul, Brazil, based on secondary data. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 1, p. 15–22, 2018.
- TOYOFUKU, H.; PIRES, S.; HALD, T. Salmonella Source Attribution in Japan by a Microbiological Subtyping Approach. **Ecohealth**, New York, v. 7, n. Suppl. 1, p. S22–S23, 2011.
- UZZAU, S. et al. Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 125, n. 2, p. 229–255, 2000.
- VALKENBURGH, S. et al. **Zoonoses and Zoonotic Agents in Humans, Food, Animals and Feed in The Netherlands 2003–2006. RIVM rapportnummer: 330152001.** Bilthoven. Disponível em: <<http://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/330152001.pdf>>.
- VAN PELT, W. et al. Oorsprong, omvang en kosten van humane salmonellose. Deel 1. Oorsprong van human salmonellose met betrekking tot varken, rund, kip, ei en overige bronnen. **Infectieziekten Bulletin**, Bilthoven, v. 10, p. 240–243, 1999.
- VAN VALKENHOEF, Gert et al. Automating network meta-analysis. **Research Synthesis Methods**, Malden, MA, v. 3, n. 4, p. 285–299, 2012.
- VETERINARIANS WITHOUT BORDERS. **One Health for One World: A Compendium of Case Studies.** 2010. Disponível em: <[https://www.vetswithoutborders.ca/images/pdfs/OHOW Compendium Case Studies.pdf](https://www.vetswithoutborders.ca/images/pdfs/OHOW%20Compendium%20Case%20Studies.pdf)>. Acesso em: 21 jan. 2019.
- VIEIRA, A. R. et al. Attribution of *Salmonella enterica* serotype Hadar infections using antimicrobial resistance data from two points in the food supply system. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 144, n. 9, p. 1983–1990, 2016.
- WAGNER, Vanessa Rech; SILVEIRA, Josete Baialardi; TONDO, Eduardo Cesar. Salmonellosis in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, 2002 to 2004. **Brazilian Journal of Microbiology**, Rio de Janeiro, v. 44, n. 3, p. 723–729, 2013.
- WAHLSTRÖM, H. et al. Source attribution of human *Salmonella* cases in Sweden. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 139, n. 8, p. 1246–1253, 2011.

WELLS, Scott J. et al. Use of epidemiologic information in targeted surveillance for population inference. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 89, n. 1–2, p. 43–50, 2009.

WENDT, A.; KREIENBROCK, L.; CAMPE, A. Zoonotic disease surveillance - Inventory of systems integrating human and animal disease information. **Zoonoses and Public Health**, Berlin, v. 62, n. 1, p. 61–74, 2015.

WHEELER, J. G. et al. Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. **BMJ**, London, v. 318, n. 7190, p. 1046–1050, 1999.

WHO. **WHO Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases (Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007-2015)**. Geneva: World Health Organization, 2015. Disponível em: <[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/199350/9789241565165_eng.pdf)>

WILSON, Daniel J. et al. Tracing the source of campylobacteriosis. **PLoS Genetics**, San Francisco, CA, v. 4, n. 9, p. e1000203, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Five Keys to Safer Food Manual**. 2006. Disponível em: <[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43546/9789241594639\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43546/9789241594639_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>.

WRIGHT, A. P. et al. The rise and decline in Salmonella enterica serovar Enteritidis outbreaks attributed to egg-containing foods in the United States, 1973-2009. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, UK, v. 144, n. 4, p. 810–819, 2016.

ZINSSTAG, J. et al. From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. **Preventive veterinary medicine**, Amsterdam, v. 101, n. 3–4, p. 148–156, 2011.

ZINSSTAG, Jakob. Convergence of Ecohealth and One Health. **EcoHealth**, New York, v. 9, p. 371–373, 2012.

**APÊNDICE A** – Matriz de valores médios das quantidades de fontes disponíveis para consumo no RS no período do estudo (DOS SANTOS; HEIN; MACHADO, 2012).

Fonte/ Origem	Quantidade (cabeças/ dúzias)	Peso médio (kg)	Rendimento	Total (mil t)
Suíños/ RS	5729720	100	0.72	412,5
Frangos/ RS	127724419	5	0.83	530,0
Perus/ RS	57421	7	0.75	0,3
Ovos/ RS	300738	0.684	0.9	0,1
Suíños/ SC	29372467	100	0.72	2114,8
Frangos/ SC	22848963	5	0.83	94,8
Frangos/ PR	19962358	5	0.83	82,8
Frangos/ GO	818687	5	0.83	3,3
Perus/SC;PR;GO	297881	7	0.75	1,5

## APÊNDICE B – Código utilizado no modelo de sorotipificação microbiana e sumário dos resultados

```
[workspace loaded from ~/R/.RData]

> setwd("~/R")
> bd.obs= read.csv2('casos_Ser15_spo.csv')
> #bd.obs= read.csv2('casos_ser15.csv')
> bd.prev= read.csv2('prev_15_9.csv')
> bd.qtdes= read.csv2('quantidades9kg.csv')
> #install.packages("rjags")
> library(rjags)
Carregando pacotes exigidos: coda
Linked to JAGS 4.2.0
Loaded modules: basemod,bugs
Warning messages:
1: package 'rjags' was built under R version 3.5.2
2: package 'coda' was built under R version 3.5.2
> writeLines(
+ "model{
+   for(i in 1:15){
+     for(j in 1:nsource){
+       lambdaij[i,j] <- prevs[i, j]*qtdes[j]*a[j]*q[i]
+     }
+     casos[i] ~ dpois(lambda[i])
+     lambda[i] <- sum(lambdaij[i, 1:nsource])
+   }
+
+   for(j in 1:nsource){
+     lambda[j]<-sum(lambdaij[1:15, j])
+   }
+   a[1]~dunif(0,100)
+   a[2]~dunif(0,100)
+   a[3]~dunif(0,100)
+   a[4]~dunif(0,100)
+   a[5]<-a[1]
+   a[6]<-a[2]
+   a[7]<-a[2]
+   a[8]<-a[2]
+   a[9]<-a[3]
+
+   q[1]~dunif(0,100)
+   q[2]~dunif(0,100)
+   q[3]~dunif(0,100)
+   q[4]~dunif(0,100)
+   q[5]~dunif(0,100)
```

```

+ q[6]~dunif(0,100)
+ q[7]~dunif(0,100)
+ q[8]~dunif(0,100)
+ q[9]~dunif(0,100)
+ q[10]~dunif(0,100)
+ q[11]~dunif(0,100)
+ q[12]~dunif(0,100)
+ q[13]~dunif(0,100)
+ q[14]~dunif(0,100)
+ q[15]~dunif(0,100)
+
+ }
+ ", "modelo_a_related9_q_uniform15")
> # Definindo os dados como uma lista, tal qual o BUGS
> nsero = 15 #n serovar (índice i)
> nsource = 9 #n fonte animal (índice j)
> dadosjags = list(nsero=15,
+                 nsource = 9,
+                 casos = array(bd.obs$ncasos),
+                 prevs = array(bd.prev$prev, c(nsero, nsource)),
+                 qtde = array(bd.qtde$qtde)
+ )
> # Definindo as iniciais como uma lista, tal qual o BUGS
> inits = list(list(a=c(1,33,66,99,NA,NA,NA,NA,NA),q=c(1,8,15,22,29,19,89,36,43,50,57,64,71,78,85)),
+             list(a=c(33,66,99,1,NA,NA,NA,NA,NA),q=c(8,15,22,29,36,89,19,43,50,57,64,71,78,85,1)),
+             list(a=c(66,99,1,33,NA,NA,NA,NA,NA),q=c(15,22,29,36,43,6,88,50,57,64,71,78,85,1,8)))
> # Definindo burn-in, número de simulações, thin e parâmetros para os quais se quer resultados
> burn = 60000
> nsim = 120000
> nthin = 1
> parms = c("a","q","lambdai", "lambdaj", "lambdaij")
> # Iniciando o modelo com uma cadeira e 1000 iterações para adaptações
> m <- jags.model("modelo_a_related9_q_uniform15.txt", dadosjags, inits, n.chains=3,n.adapt=1000)
Compiling model graph
  Resolving undeclared variables
  Allocating nodes
Graph information:
  Observed stochastic nodes: 15
  Unobserved stochastic nodes: 19
  Total graph size: 400

Initializing model

|+++++| 100%
Warning message:
In jags.model("modelo_a_related9_q_uniform15.txt", dadosjags, inits, :

```



```

Unused variable "nzero" in data
> # Atualizando o burn-in
> update(m,burn)
|*****| 100%
> # Obtendo amostra final
> mcmc <- coda.samples(m, parms, n.iter=nsim,thin=nthin)
|*****| 100%
> # Resultados - sumário e gráficos
> summary(mcmc)

```

```

Iterations = 61001:181000
Thinning interval = 1
Number of chains = 3
Sample size per chain = 120000

```

1. Empirical mean and standard deviation for each variable,  
plus standard error of the mean:

	Mean	SD	Naive SE	Time-series SE
a[1]	2.024e-09	1.277e-09	2.129e-12	0.000e+00
a[2]	1.532e-08	2.390e-08	3.983e-11	8.187e-10
a[3]	2.424e-06	1.936e-06	3.227e-09	3.850e-08
a[4]	7.814e-05	4.892e-05	8.153e-08	1.626e-06
a[5]	2.024e-09	1.277e-09	2.129e-12	0.000e+00
a[6]	1.532e-08	2.390e-08	3.983e-11	8.187e-10
a[7]	1.532e-08	2.390e-08	3.983e-11	8.187e-10
a[8]	1.532e-08	2.390e-08	3.983e-11	8.187e-10
a[9]	2.424e-06	1.936e-06	3.227e-09	3.850e-08
lambdai[1]	1.760e+02	1.326e+01	2.211e-02	3.599e-02
lambdai[2]	1.613e+02	1.265e+01	2.108e-02	4.181e-02
lambdai[3]	3.990e+00	1.995e+00	3.325e-03	1.748e-02
lambdai[4]	3.307e+01	5.529e+00	9.215e-03	5.798e-02
lambdai[5]	1.140e+01	3.396e+00	5.660e-03	2.456e-02
lambdai[6]	2.401e+00	1.285e+00	2.141e-03	1.076e-02
lambdai[7]	1.278e+00	8.225e-01	1.371e-03	8.352e-03
lambdai[8]	2.005e+00	1.416e+00	2.360e-03	1.305e-02
lambdai[9]	4.160e-01	2.980e-01	4.967e-04	6.678e-03
lambdai[10]	2.019e+00	1.385e+00	2.308e-03	2.945e-02
lambdai[11]	1.279e+00	8.207e-01	1.368e-03	8.019e-03
lambdai[12]	1.919e+00	1.327e+00	2.211e-03	9.190e-03
lambdai[13]	5.000e+00	2.233e+00	3.721e-03	1.801e-02
lambdai[14]	3.004e+00	1.718e+00	2.864e-03	1.876e-02
lambdai[15]	1.897e+00	1.328e+00	2.213e-03	2.846e-02
lambdaij[1,1]	4.142e-01	3.364e-01	5.607e-04	1.226e-02
lambdaij[2,1]	9.501e+00	2.192e+00	3.653e-03	6.489e-02
lambdaij[3,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00

lambdaij[4,1]	1.020e+00	4.892e-01	8.154e-04	1.625e-02
lambdaij[5,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,1]	1.806e-01	1.276e-01	2.127e-04	1.174e-03
lambdaij[9,1]	4.080e-01	2.996e-01	4.994e-04	6.973e-03
lambdaij[10,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,1]	4.204e-01	2.279e-01	3.798e-04	2.905e-03
lambdaij[14,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[1,2]	2.797e+01	2.894e+01	4.824e-02	6.911e-01
lambdaij[2,2]	1.298e+00	2.419e+00	4.031e-03	8.496e-02
lambdaij[3,2]	2.632e-01	4.295e-01	7.158e-04	8.768e-03
lambdaij[4,2]	2.936e+00	3.996e+00	6.660e-03	1.365e-01
lambdaij[5,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,2]	9.477e-01	8.749e-01	1.458e-03	7.447e-03
lambdaij[11,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,2]	2.011e-01	3.671e-01	6.118e-04	9.629e-03
lambdaij[14,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,2]	8.796e-01	8.659e-01	1.443e-03	1.060e-02
lambdaij[1,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[2,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[3,3]	1.031e+00	5.330e-01	8.884e-04	5.022e-03
lambdaij[4,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[5,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,3]	3.609e-01	4.207e-01	7.011e-04	1.317e-02
lambdaij[11,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[14,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[1,4]	1.382e+02	3.790e+01	6.316e-02	8.242e-01
lambdaij[2,4]	1.141e+01	1.024e+01	1.707e-02	3.698e-01
lambdaij[3,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[4,4]	4.673e+00	2.992e+00	4.987e-03	8.949e-02

lambdaij[5,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,4]	2.401e+00	1.285e+00	2.141e-03	1.076e-02
lambdaij[7,4]	1.278e+00	8.225e-01	1.371e-03	8.352e-03
lambdaij[8,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,4]	5.064e-01	5.418e-01	9.030e-04	5.355e-02
lambdaij[11,4]	1.273e+00	8.193e-01	1.366e-03	7.994e-03
lambdaij[12,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,4]	6.225e-01	5.688e-01	9.481e-04	1.248e-02
lambdaij[14,4]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,4]	4.693e-01	5.401e-01	9.002e-04	5.112e-02
lambdaij[1,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[2,5]	1.181e+02	2.725e+01	4.542e-02	8.068e-01
lambdaij[3,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[4,5]	1.634e+01	7.838e+00	1.306e-02	2.603e-01
lambdaij[5,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,5]	1.822e+00	1.287e+00	2.145e-03	1.184e-02
lambdaij[9,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,5]	1.919e+00	1.327e+00	2.211e-03	9.190e-03
lambdaij[13,5]	3.025e+00	1.640e+00	2.733e-03	2.090e-02
lambdaij[14,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,5]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[1,6]	2.638e+00	2.730e+00	4.551e-03	6.520e-02
lambdaij[2,6]	6.967e-01	1.298e+00	2.163e-03	4.559e-02
lambdaij[3,6]	1.899e-02	3.099e-02	5.165e-05	6.327e-04
lambdaij[4,6]	5.252e-01	7.149e-01	1.191e-03	2.442e-02
lambdaij[5,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,6]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,6]	4.112e-02	7.504e-02	1.251e-04	1.969e-03
lambdaij[14,6]	1.340e-01	2.255e-01	3.758e-04	5.099e-03
lambdaij[15,6]	6.784e-02	6.679e-02	1.113e-04	8.176e-04
lambdaij[1,7]	4.859e+00	5.029e+00	8.381e-03	1.201e-01
lambdaij[2,7]	4.058e-01	7.560e-01	1.260e-03	2.656e-02
lambdaij[3,7]	8.295e-03	1.354e-02	2.256e-05	2.764e-04
lambdaij[4,7]	2.294e-01	3.123e-01	5.205e-04	1.067e-02
lambdaij[5,7]	1.781e-01	3.041e-01	5.069e-04	7.839e-03

lambdaij[6,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,7]	2.040e-01	1.883e-01	3.138e-04	1.603e-03
lambdaij[11,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[14,7]	1.171e-01	1.970e-01	3.283e-04	4.455e-03
lambdaij[15,7]	4.939e-02	4.863e-02	8.104e-05	5.952e-04
lambdaij[1,8]	1.692e-01	1.751e-01	2.919e-04	4.182e-03
lambdaij[2,8]	4.958e-02	9.237e-02	1.539e-04	3.245e-03
lambdaij[3,8]	2.367e-03	3.863e-03	6.439e-06	7.887e-05
lambdaij[4,8]	1.121e-01	1.526e-01	2.544e-04	5.214e-03
lambdaij[5,8]	6.543e-02	1.117e-01	1.862e-04	2.880e-03
lambdaij[6,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,8]	2.792e-03	7.935e-03	1.323e-05	1.808e-04
lambdaij[9,8]	7.959e-03	1.368e-02	2.280e-05	4.021e-04
lambdaij[10,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,8]	6.174e-03	1.139e-02	1.898e-05	2.611e-04
lambdaij[12,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,8]	2.210e-03	4.033e-03	6.722e-06	1.058e-04
lambdaij[14,8]	1.274e-02	2.143e-02	3.572e-05	4.847e-04
lambdaij[15,8]	4.828e-03	4.753e-03	7.921e-06	5.818e-05
lambdaij[1,9]	1.743e+00	1.683e+00	2.805e-03	4.255e-02
lambdaij[2,9]	1.979e+01	2.080e+01	3.466e-02	5.486e-01
lambdaij[3,9]	2.666e+00	1.378e+00	2.297e-03	1.299e-02
lambdaij[4,9]	7.238e+00	5.428e+00	9.046e-03	1.164e-01
lambdaij[5,9]	1.116e+01	3.399e+00	5.665e-03	2.514e-02
lambdaij[6,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,9]	6.873e-01	7.780e-01	1.297e-03	1.479e-02
lambdaij[14,9]	2.740e+00	1.614e+00	2.690e-03	1.724e-02
lambdaij[15,9]	4.265e-01	4.546e-01	7.576e-04	8.608e-03
lambdaj[1]	1.194e+01	3.144e+00	5.240e-03	1.097e-01
lambdaj[2]	3.449e+01	3.572e+01	5.953e-02	9.001e-01
lambdaj[3]	1.392e+00	7.087e-01	1.181e-03	1.171e-02
lambdaj[4]	1.609e+02	4.393e+01	7.322e-02	8.602e-01
lambdaj[5]	1.412e+02	3.481e+01	5.802e-02	1.150e+00
lambdaj[6]	4.122e+00	4.747e+00	7.911e-03	1.371e-01

lambdaj[7]	6.051e+00	6.379e+00	1.063e-02	1.633e-01
lambdaj[8]	4.354e-01	5.473e-01	9.122e-04	1.680e-02
lambdaj[9]	4.645e+01	2.944e+01	4.907e-02	7.181e-01
q[1]	5.740e+01	2.273e+01	3.788e-02	2.460e+00
q[2]	5.394e+01	2.132e+01	3.553e-02	8.585e-01
q[3]	3.435e+00	2.684e+00	4.473e-03	5.304e-02
q[4]	8.100e+01	1.500e+01	2.499e-02	2.624e-01
q[5]	6.131e+01	2.511e+01	4.185e-02	3.823e-01
q[6]	4.864e+01	2.490e+01	4.150e-02	3.223e-01
q[7]	4.954e+01	2.611e+01	4.352e-02	2.220e-01
q[8]	2.702e+00	3.304e+00	5.507e-03	8.682e-02
q[9]	6.273e+01	2.456e+01	4.093e-02	7.265e-02
q[10]	1.850e+01	1.865e+01	3.109e-02	2.789e+00
q[11]	4.938e+01	2.610e+01	4.349e-02	2.093e-01
q[12]	2.102e+01	1.911e+01	3.185e-02	3.802e-01
q[13]	1.066e+01	5.993e+00	9.988e-03	8.736e-02
q[14]	1.621e+01	1.326e+01	2.209e-02	3.106e-01
q[15]	1.657e+01	1.602e+01	2.671e-02	1.289e+00

## 2. Quantiles for each variable:

	2.5%	25%	50%	75%	97.5%
a[1]	3.946e-10	1.109e-09	1.818e-09	2.600e-09	5.166e-09
a[2]	1.588e-10	2.042e-09	6.316e-09	1.786e-08	8.305e-08
a[3]	7.114e-07	1.254e-06	1.766e-06	2.820e-06	8.029e-06
a[4]	2.555e-05	4.907e-05	6.514e-05	9.067e-05	2.107e-04
a[5]	3.946e-10	1.109e-09	1.818e-09	2.600e-09	5.166e-09
a[6]	1.588e-10	2.042e-09	6.316e-09	1.786e-08	8.305e-08
a[7]	1.588e-10	2.042e-09	6.316e-09	1.786e-08	8.305e-08
a[8]	1.588e-10	2.042e-09	6.316e-09	1.786e-08	8.305e-08
a[9]	7.114e-07	1.254e-06	1.766e-06	2.820e-06	8.029e-06
lambdai[1]	1.510e+02	1.669e+02	1.757e+02	1.848e+02	2.030e+02
lambdai[2]	1.374e+02	1.526e+02	1.610e+02	1.697e+02	1.869e+02
lambdai[3]	1.088e+00	2.527e+00	3.662e+00	5.101e+00	8.761e+00
lambdai[4]	2.333e+01	2.916e+01	3.270e+01	3.659e+01	4.491e+01
lambdai[5]	5.750e+00	8.964e+00	1.107e+01	1.348e+01	1.898e+01
lambdai[6]	5.384e-01	1.455e+00	2.205e+00	3.117e+00	5.435e+00
lambdai[7]	1.817e-01	6.832e-01	1.128e+00	1.688e+00	3.298e+00
lambdai[8]	2.456e-01	9.643e-01	1.686e+00	2.692e+00	5.589e+00
lambdai[9]	5.288e-02	2.023e-01	3.490e-01	5.570e-01	1.159e+00
lambdai[10]	2.386e-01	9.787e-01	1.732e+00	2.750e+00	5.426e+00
lambdai[11]	1.831e-01	6.861e-01	1.130e+00	1.689e+00	3.309e+00
lambdai[12]	2.340e-01	9.364e-01	1.626e+00	2.593e+00	5.240e+00
lambdai[13]	1.623e+00	3.365e+00	4.672e+00	6.285e+00	1.021e+01
lambdai[14]	6.232e-01	1.739e+00	2.686e+00	3.927e+00	7.173e+00
lambdai[15]	2.536e-01	9.421e-01	1.588e+00	2.515e+00	5.311e+00

lambdaij[1,1]	3.402e-02	1.571e-01	3.447e-01	5.806e-01	1.222e+00
lambdaij[2,1]	3.698e+00	8.526e+00	1.001e+01	1.099e+01	1.254e+01
lambdaij[3,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[4,1]	1.889e-01	6.211e-01	1.018e+00	1.374e+00	1.982e+00
lambdaij[5,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,1]	2.211e-02	8.685e-02	1.519e-01	2.425e-01	5.036e-01
lambdaij[9,1]	4.764e-02	1.909e-01	3.397e-01	5.518e-01	1.155e+00
lambdaij[10,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,1]	8.456e-02	2.531e-01	3.848e-01	5.484e-01	9.614e-01
lambdaij[14,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,1]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[1,2]	4.146e-01	5.422e+00	1.657e+01	4.286e+01	1.020e+02
lambdaij[2,2]	7.825e-03	1.091e-01	3.747e-01	1.263e+00	8.392e+00
lambdaij[3,2]	2.293e-03	3.225e-02	1.039e-01	3.006e-01	1.517e+00
lambdaij[4,2]	3.182e-02	4.144e-01	1.295e+00	3.688e+00	1.491e+01
lambdaij[5,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,2]	3.132e-02	3.127e-01	7.007e-01	1.317e+00	3.257e+00
lambdaij[11,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,2]	1.229e-03	1.778e-02	6.176e-02	2.067e-01	1.286e+00
lambdaij[14,2]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,2]	2.332e-02	2.604e-01	6.157e-01	1.221e+00	3.203e+00
lambdaij[1,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[2,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[3,3]	2.651e-01	6.402e-01	9.405e-01	1.324e+00	2.313e+00
lambdaij[4,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[5,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[6,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,3]	1.096e-02	8.202e-02	2.167e-01	4.951e-01	1.496e+00
lambdaij[11,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[14,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[15,3]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[1,4]	4.546e+01	1.177e+02	1.487e+02	1.657e+02	1.894e+02

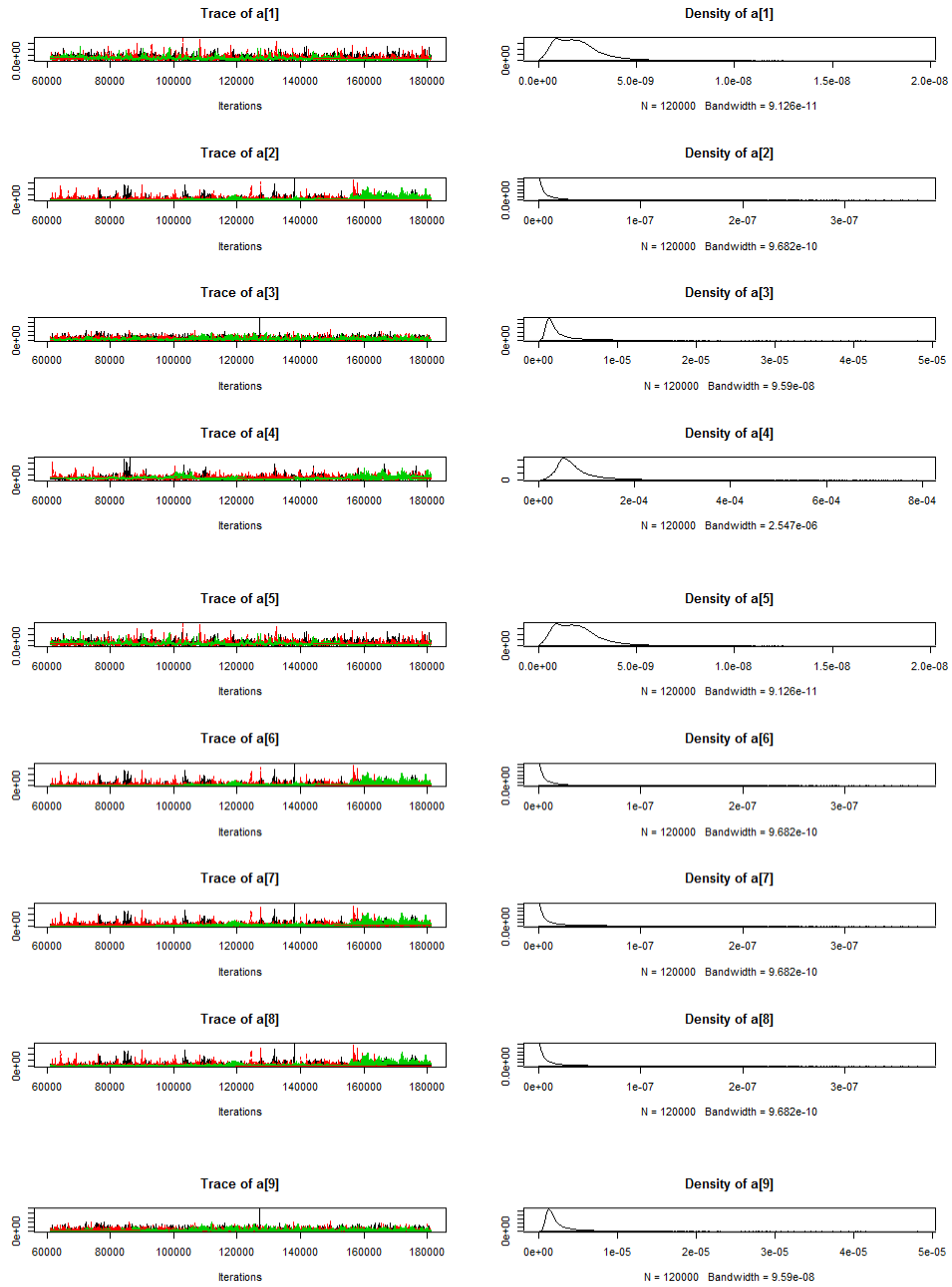
$\lambda_{2,4}$	2.388e+00	5.393e+00	8.215e+00	1.350e+01	4.026e+01
$\lambda_{3,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{4,4}$	1.319e+00	2.835e+00	3.904e+00	5.540e+00	1.290e+01
$\lambda_{5,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{6,4}$	5.384e-01	1.455e+00	2.205e+00	3.117e+00	5.435e+00
$\lambda_{7,4}$	1.817e-01	6.832e-01	1.128e+00	1.688e+00	3.298e+00
$\lambda_{8,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{9,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{10,4}$	1.398e-02	1.055e-01	2.820e-01	7.794e-01	1.840e+00
$\lambda_{11,4}$	1.809e-01	6.805e-01	1.123e+00	1.682e+00	3.300e+00
$\lambda_{12,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{13,4}$	9.595e-02	2.716e-01	4.555e-01	7.676e-01	2.190e+00
$\lambda_{14,4}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{15,4}$	1.672e-02	1.191e-01	2.907e-01	6.241e-01	1.962e+00
$\lambda_{1,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{2,5}$	4.598e+01	1.060e+02	1.245e+02	1.367e+02	1.559e+02
$\lambda_{3,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{4,5}$	3.027e+00	9.950e+00	1.631e+01	2.202e+01	3.175e+01
$\lambda_{5,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{6,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{7,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{8,5}$	2.229e-01	8.758e-01	1.532e+00	2.446e+00	5.079e+00
$\lambda_{9,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{10,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{11,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{12,5}$	2.340e-01	9.364e-01	1.626e+00	2.593e+00	5.240e+00
$\lambda_{13,5}$	6.084e-01	1.821e+00	2.768e+00	3.945e+00	6.917e+00
$\lambda_{14,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{15,5}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{1,6}$	3.911e-02	5.115e-01	1.563e+00	4.044e+00	9.626e+00
$\lambda_{2,6}$	4.199e-03	5.858e-02	2.011e-01	6.776e-01	4.504e+00
$\lambda_{3,6}$	1.655e-04	2.327e-03	7.500e-03	2.169e-02	1.094e-01
$\lambda_{4,6}$	5.692e-03	7.413e-02	2.316e-01	6.598e-01	2.667e+00
$\lambda_{5,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{6,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{7,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{8,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{9,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{10,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{11,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{12,6}$	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
$\lambda_{13,6}$	2.512e-04	3.635e-03	1.263e-02	4.225e-02	2.629e-01
$\lambda_{14,6}$	1.071e-03	1.572e-02	5.098e-02	1.492e-01	7.880e-01
$\lambda_{15,6}$	1.799e-03	2.008e-02	4.749e-02	9.414e-02	2.471e-01
$\lambda_{1,7}$	7.203e-02	9.421e-01	2.879e+00	7.447e+00	1.773e+01
$\lambda_{2,7}$	2.446e-03	3.412e-02	1.171e-01	3.947e-01	2.623e+00

lambdaij[3,7]	7.229e-05	1.017e-03	3.276e-03	9.474e-03	4.781e-02
lambdaij[4,7]	2.486e-03	3.238e-02	1.012e-01	2.882e-01	1.165e+00
lambdaij[5,7]	1.665e-03	2.182e-02	6.680e-02	1.951e-01	1.052e+00
lambdaij[6,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,7]	6.741e-03	6.729e-02	1.508e-01	2.835e-01	7.010e-01
lambdaij[11,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,7]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[14,7]	9.354e-04	1.374e-02	4.454e-02	1.304e-01	6.884e-01
lambdaij[15,7]	1.310e-03	1.462e-02	3.457e-02	6.854e-02	1.799e-01
lambdaij[1,8]	2.509e-03	3.281e-02	1.003e-01	2.594e-01	6.175e-01
lambdaij[2,8]	2.988e-04	4.168e-03	1.431e-02	4.822e-02	3.205e-01
lambdaij[3,8]	2.063e-05	2.901e-04	9.350e-04	2.704e-03	1.364e-02
lambdaij[4,8]	1.215e-03	1.583e-02	4.944e-02	1.409e-01	5.693e-01
lambdaij[5,8]	6.117e-04	8.016e-03	2.454e-02	7.167e-02	3.866e-01
lambdaij[6,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,8]	6.132e-06	1.118e-04	4.595e-04	1.912e-03	2.217e-02
lambdaij[9,8]	5.860e-05	8.702e-04	2.886e-03	8.798e-03	4.706e-02
lambdaij[10,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,8]	3.737e-05	6.078e-04	2.110e-03	6.610e-03	3.804e-02
lambdaij[12,8]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,8]	1.350e-05	1.954e-04	6.786e-04	2.271e-03	1.413e-02
lambdaij[14,8]	1.018e-04	1.494e-03	4.846e-03	1.419e-02	7.489e-02
lambdaij[15,8]	1.280e-04	1.429e-03	3.379e-03	6.699e-03	1.758e-02
lambdaij[1,9]	2.820e-01	7.727e-01	1.239e+00	2.035e+00	6.650e+00
lambdaij[2,9]	2.997e+00	7.128e+00	1.211e+01	2.319e+01	8.491e+01
lambdaij[3,9]	6.856e-01	1.656e+00	2.432e+00	3.424e+00	5.981e+00
lambdaij[4,9]	1.835e+00	3.717e+00	5.422e+00	8.739e+00	2.305e+01
lambdaij[5,9]	5.489e+00	8.723e+00	1.083e+01	1.324e+01	1.873e+01
lambdaij[6,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[7,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[8,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[9,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[10,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[11,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[12,9]	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00	0.000e+00
lambdaij[13,9]	7.915e-02	2.347e-01	4.244e-01	8.141e-01	2.969e+00
lambdaij[14,9]	5.374e-01	1.554e+00	2.431e+00	3.592e+00	6.690e+00
lambdaij[15,9]	1.760e-02	1.241e-01	2.847e-01	5.658e-01	1.658e+00
lambdaj[1]	4.348e+00	1.017e+01	1.253e+01	1.416e+01	1.678e+01
lambdaj[2]	5.731e-01	7.179e+00	2.076e+01	5.172e+01	1.278e+02
lambdaj[3]	3.728e-01	8.787e-01	1.274e+00	1.774e+00	3.088e+00

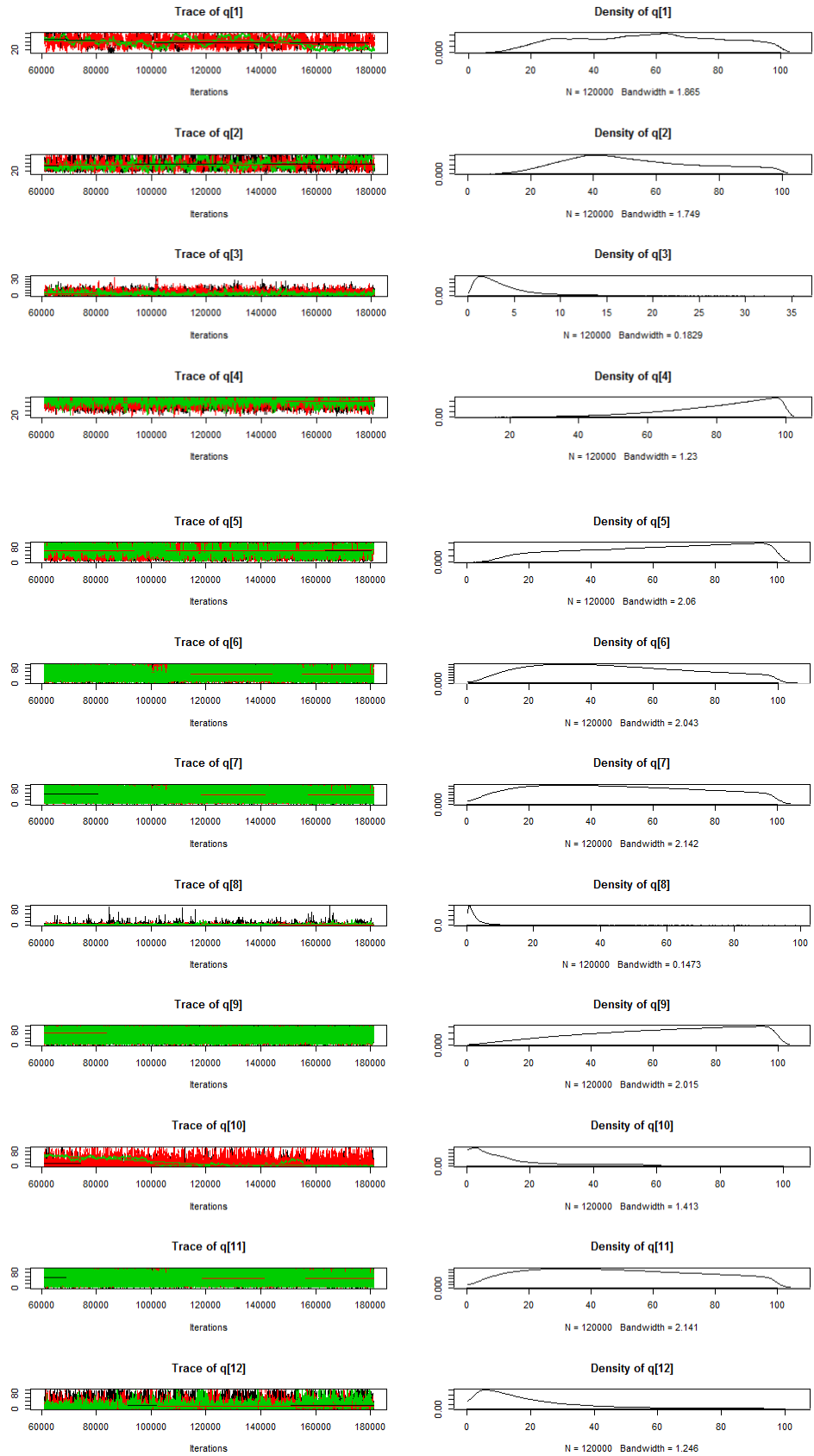


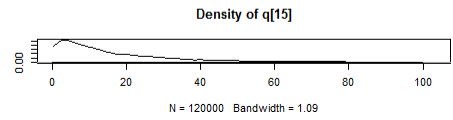
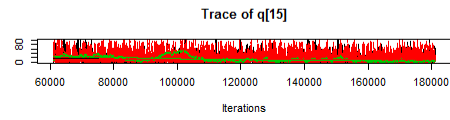
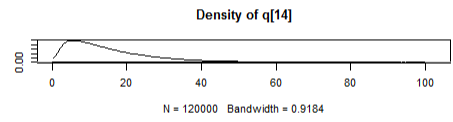
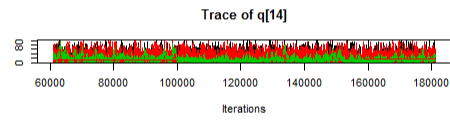
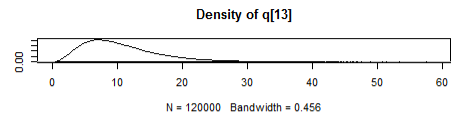
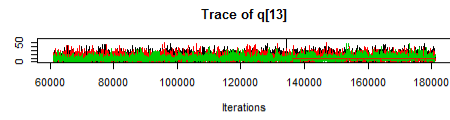
lambdaj[4]	5.803e+01	1.367e+02	1.695e+02	1.902e+02	2.316e+02
lambdaj[5]	5.318e+01	1.231e+02	1.492e+02	1.659e+02	1.905e+02
lambdaj[6]	5.781e-02	7.420e-01	2.237e+00	5.896e+00	1.723e+01
lambdaj[7]	9.805e-02	1.236e+00	3.585e+00	9.000e+00	2.285e+01
lambdaj[8]	5.710e-03	7.270e-02	2.193e-01	5.872e-01	2.004e+00
lambdaj[9]	1.721e+01	2.793e+01	3.700e+01	5.347e+01	1.353e+02
q[1]	1.749e+01	3.879e+01	5.794e+01	7.549e+01	9.696e+01
q[2]	1.970e+01	3.746e+01	5.042e+01	6.971e+01	9.632e+01
q[3]	4.602e-01	1.541e+00	2.726e+00	4.529e+00	1.072e+01
q[4]	4.493e+01	7.208e+01	8.452e+01	9.312e+01	9.937e+01
q[5]	1.406e+01	4.104e+01	6.396e+01	8.311e+01	9.840e+01
q[6]	8.684e+00	2.821e+01	4.625e+01	6.801e+01	9.598e+01
q[7]	6.680e+00	2.778e+01	4.796e+01	7.077e+01	9.664e+01
q[8]	1.907e-01	8.607e-01	1.695e+00	3.267e+00	1.161e+01
q[9]	1.297e+01	4.420e+01	6.571e+01	8.368e+01	9.841e+01
q[10]	7.324e-01	4.426e+00	1.109e+01	2.750e+01	6.285e+01
q[11]	6.701e+00	2.766e+01	4.768e+01	7.057e+01	9.663e+01
q[12]	1.669e+00	7.547e+00	1.486e+01	2.789e+01	7.689e+01
q[13]	2.597e+00	6.280e+00	9.456e+00	1.373e+01	2.556e+01
q[14]	1.821e+00	6.747e+00	1.256e+01	2.175e+01	5.170e+01
q[15]	8.659e-01	5.160e+00	1.137e+01	2.297e+01	6.120e+01

APÊNDICE II. Plots de convergência das iterações e densidade do parâmetro  $a_j$

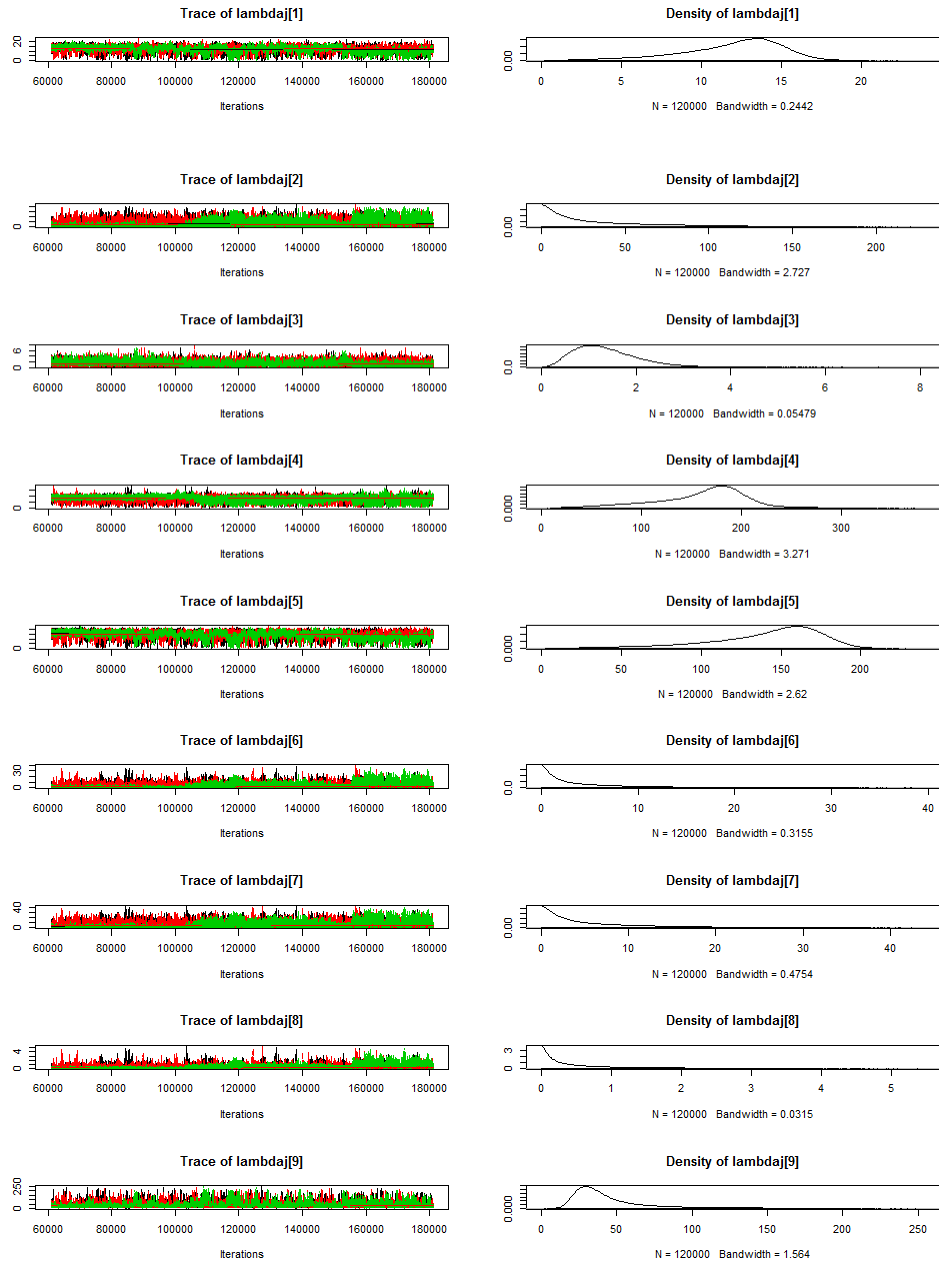


APÊNDICE C – Plots de convergência das iterações e densidade do parâmetro  $q_i$

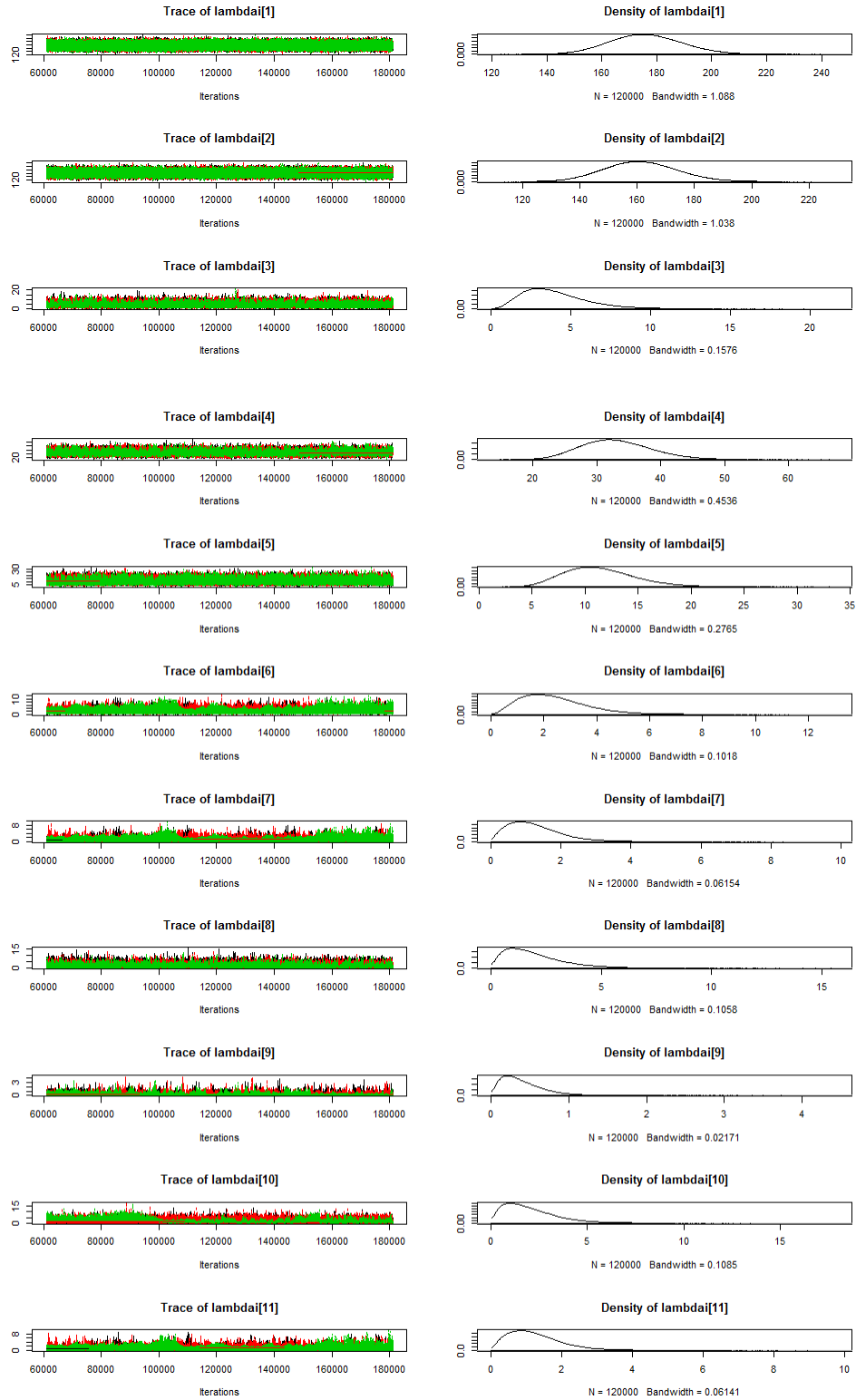


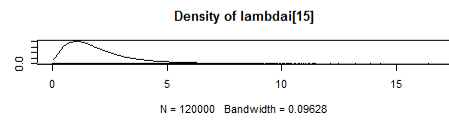
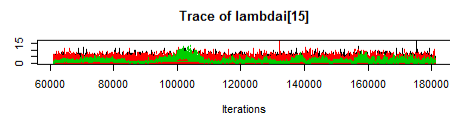
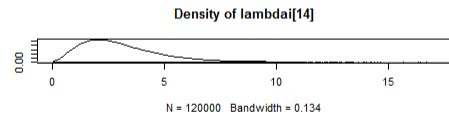
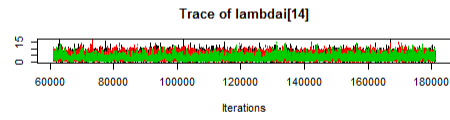
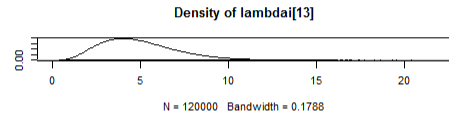
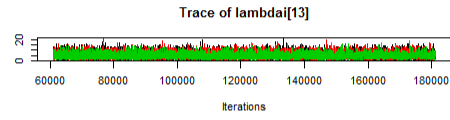
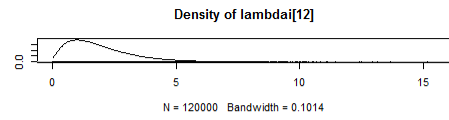
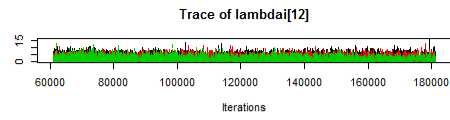


APÊNDICE D – Plots de convergência e densidade para  $\lambda_j$

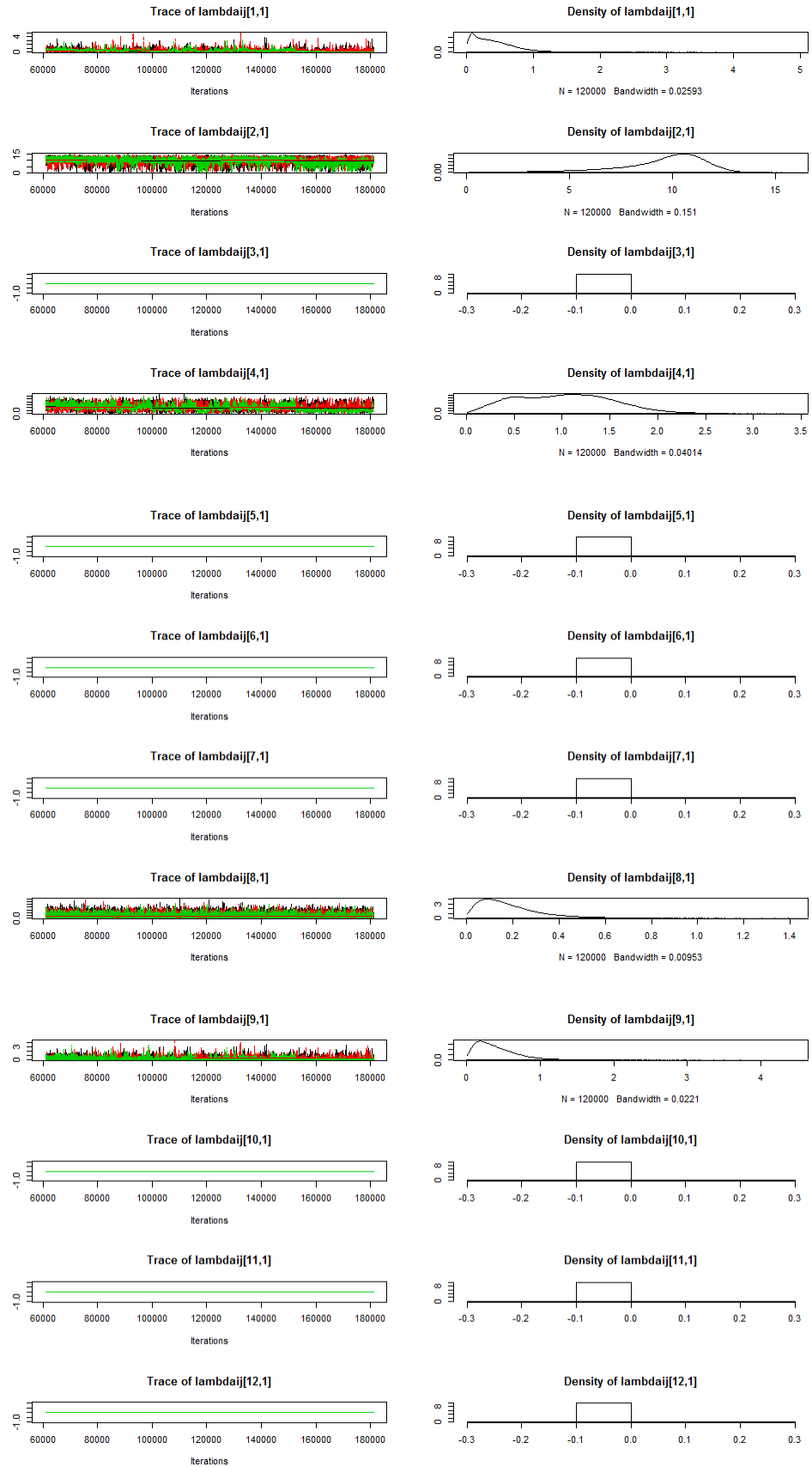


APÊNDICE E – Plots de convergência e densidade para  $\lambda_i$

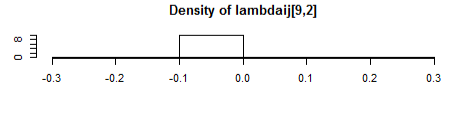
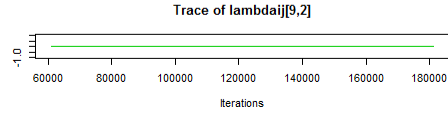
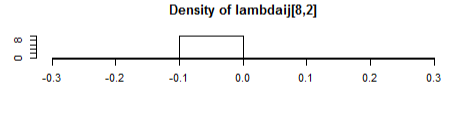
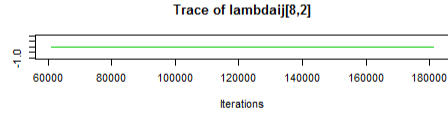
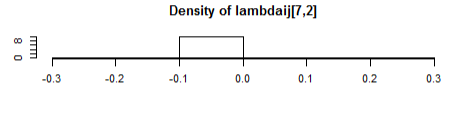
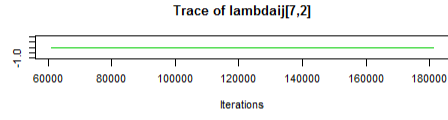
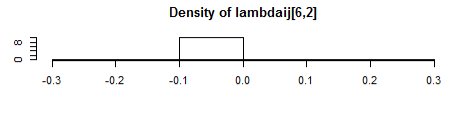
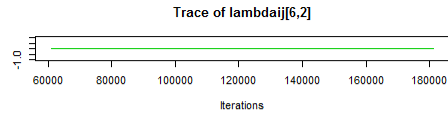
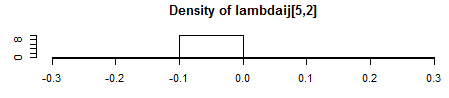
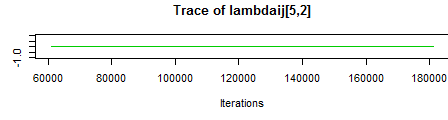
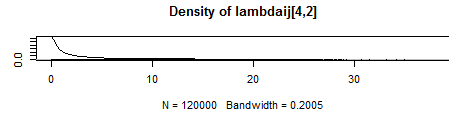
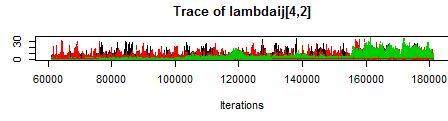
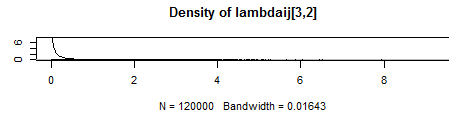
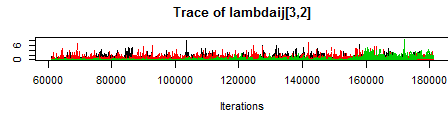
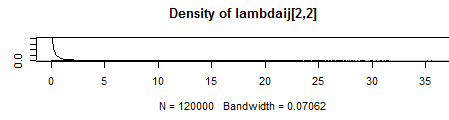
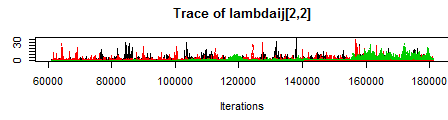
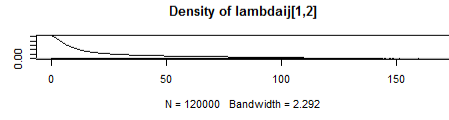
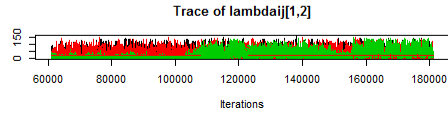
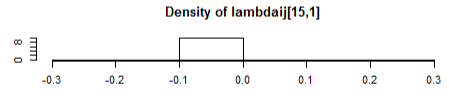
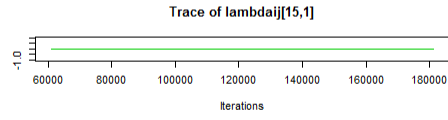
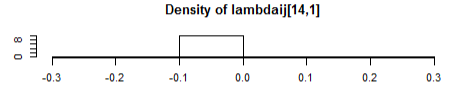
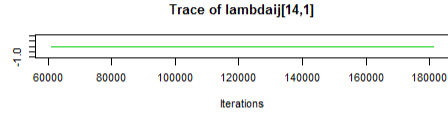
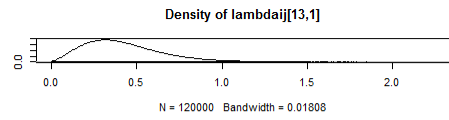
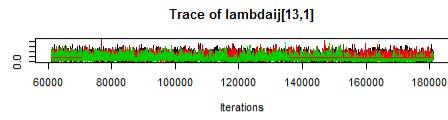


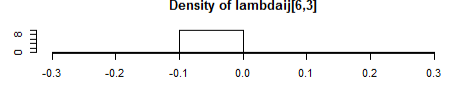
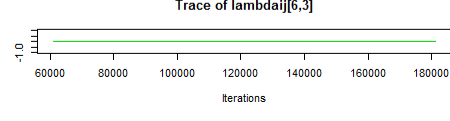
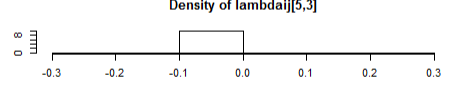
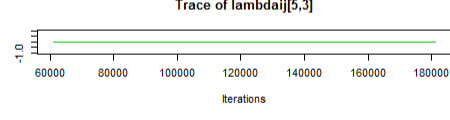
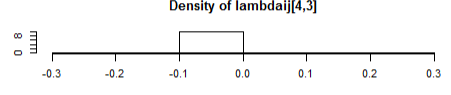
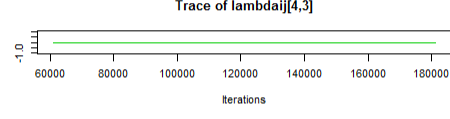
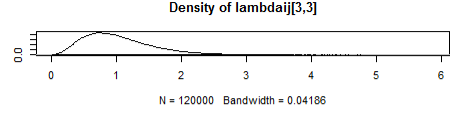
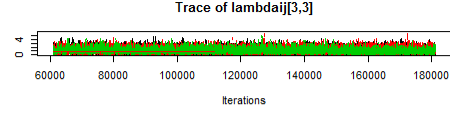
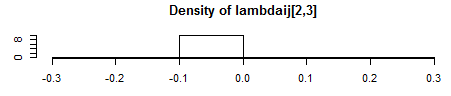
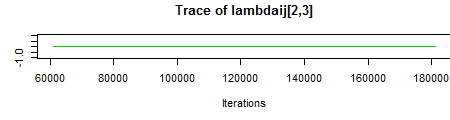
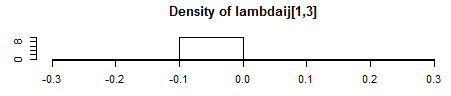
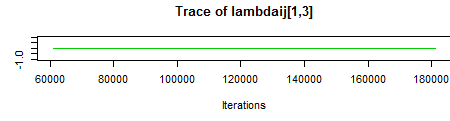
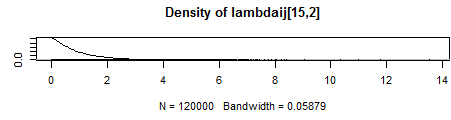
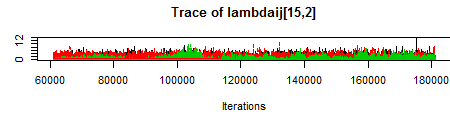
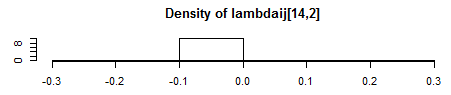
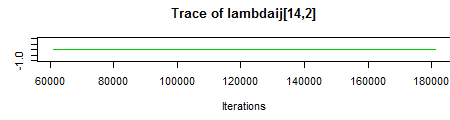
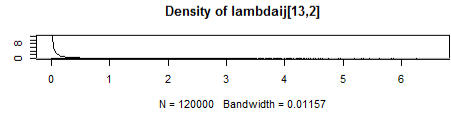
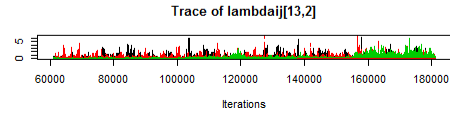
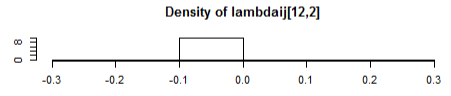
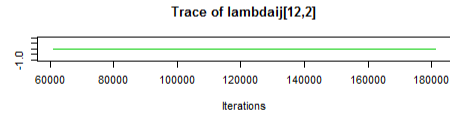
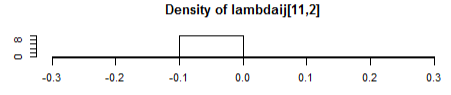
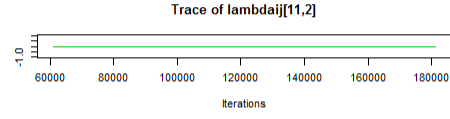
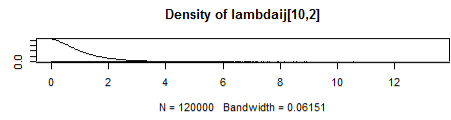
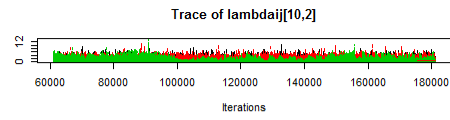


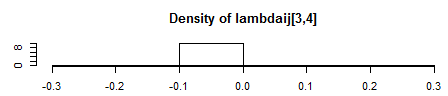
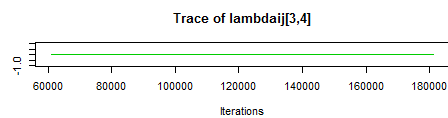
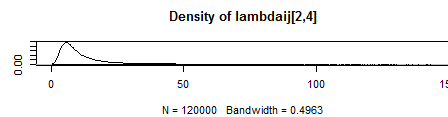
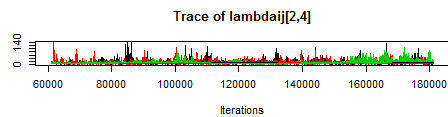
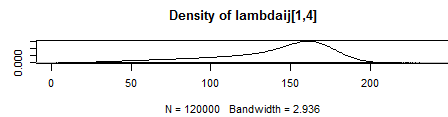
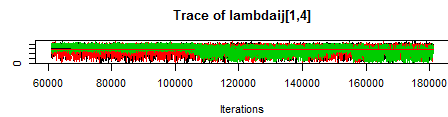
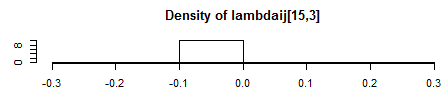
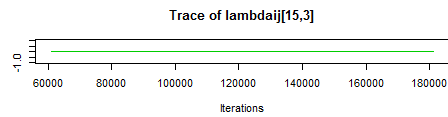
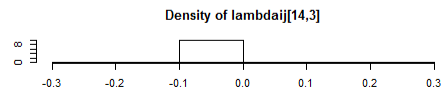
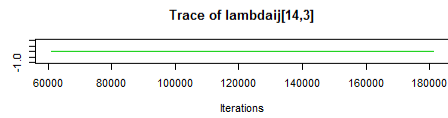
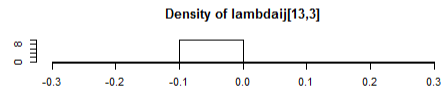
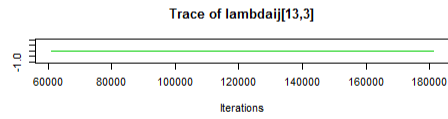
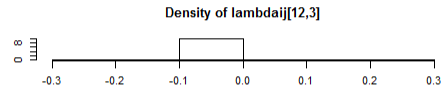
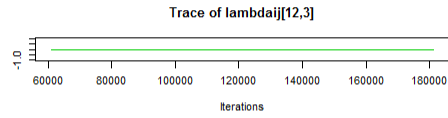
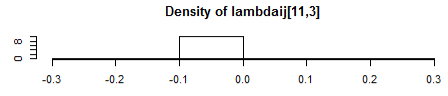
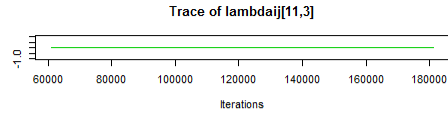
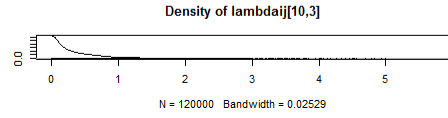
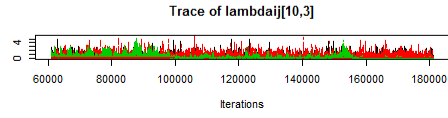
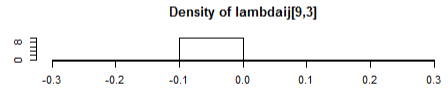
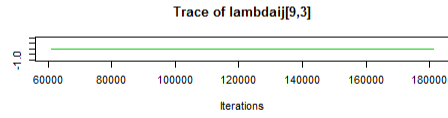
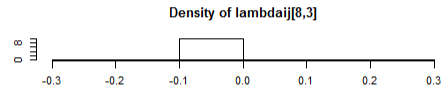
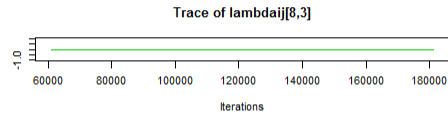
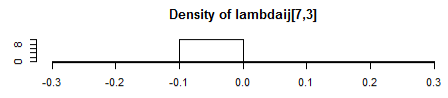
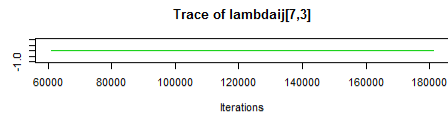
APÊNDICE F – Plots de convergência e densidade para  $\lambda_{ij}$

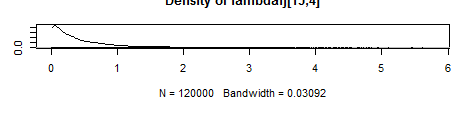
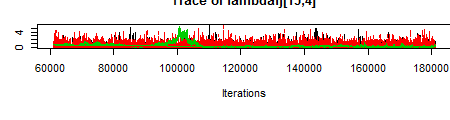
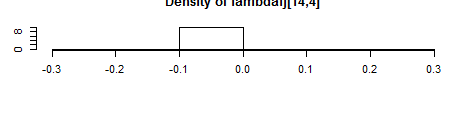
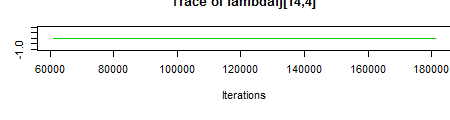
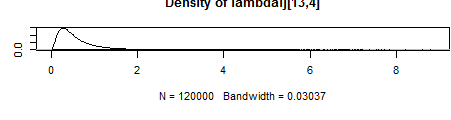
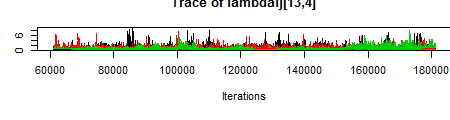
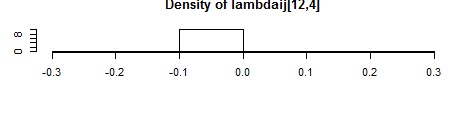
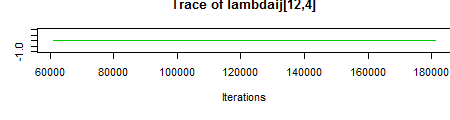
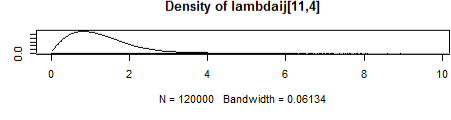
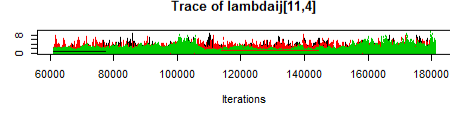
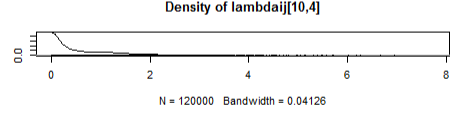
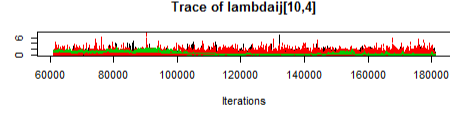
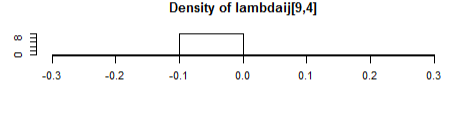
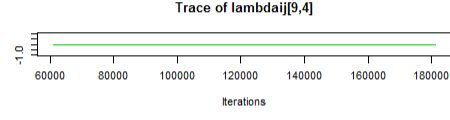
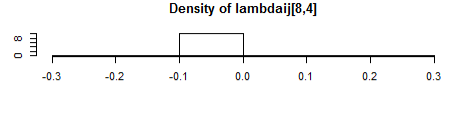
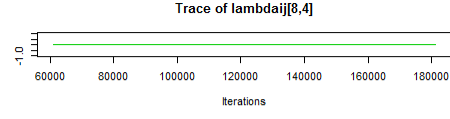
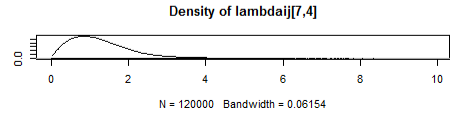
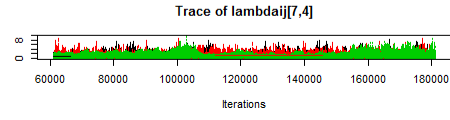
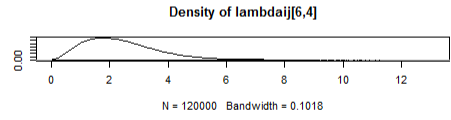
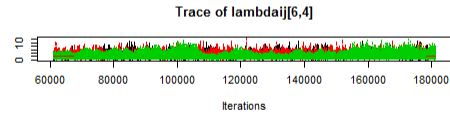
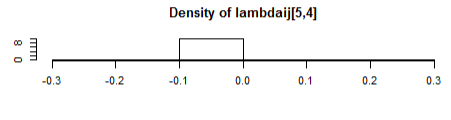
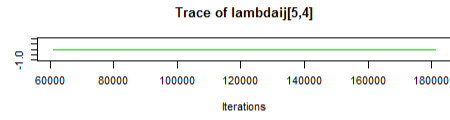
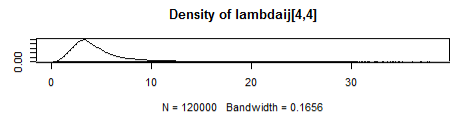
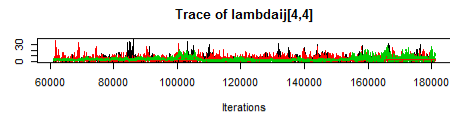


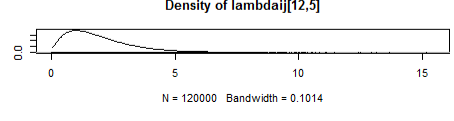
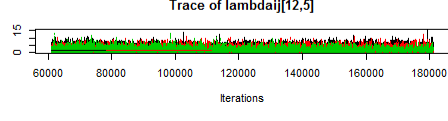
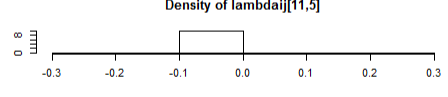
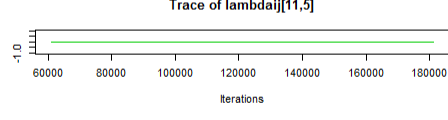
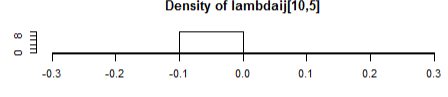
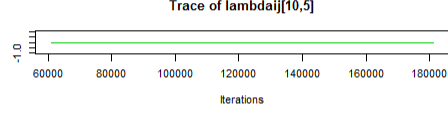
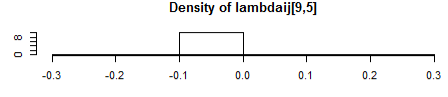
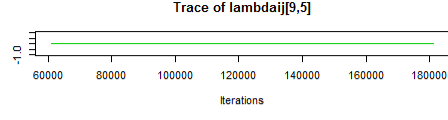
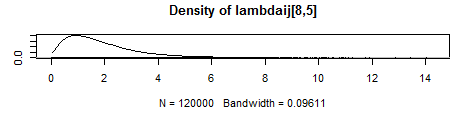
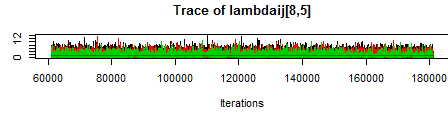
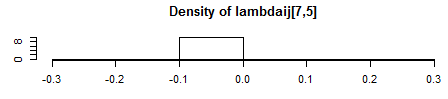
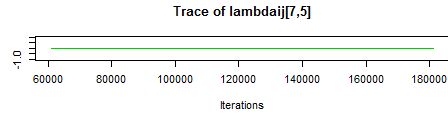
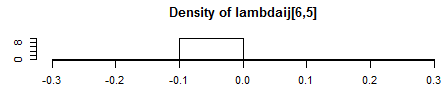
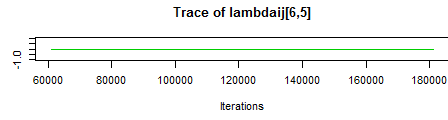
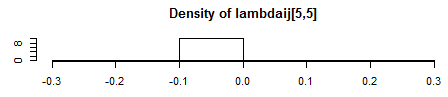
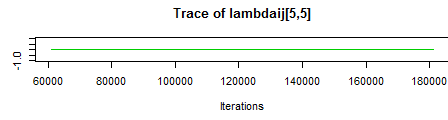
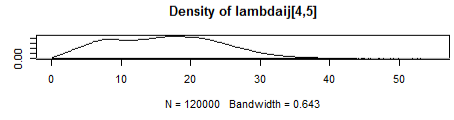
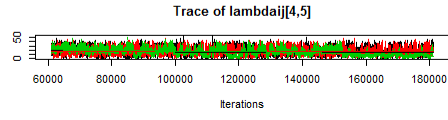
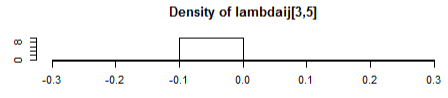
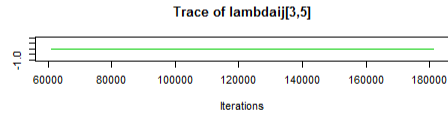
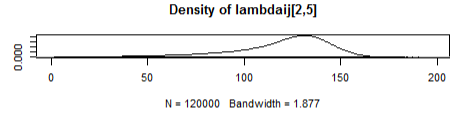
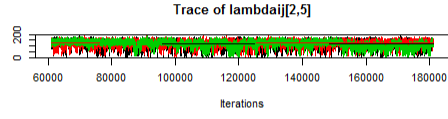
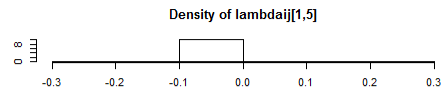
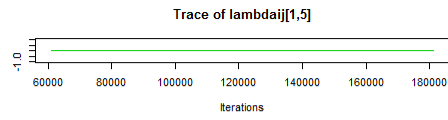


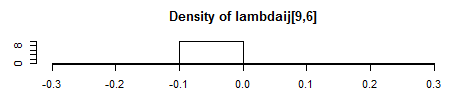
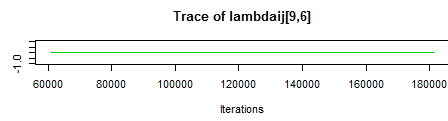
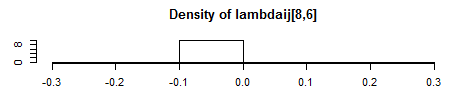
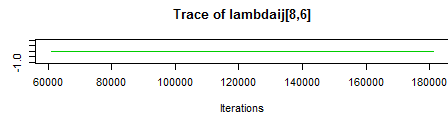
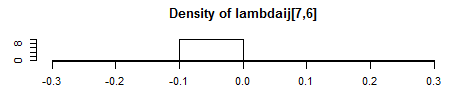
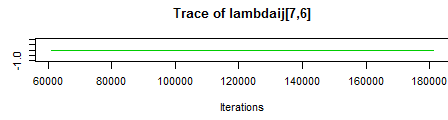
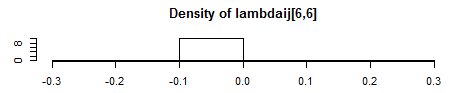
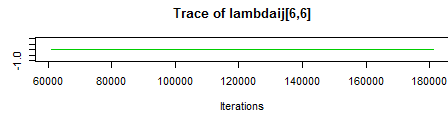
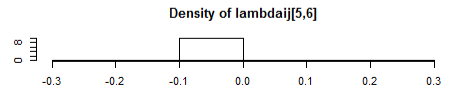
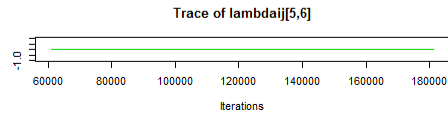
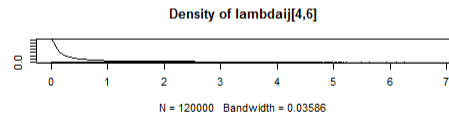
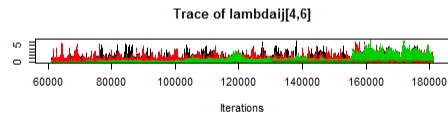
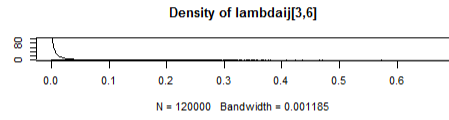
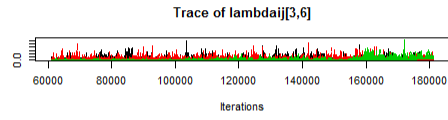
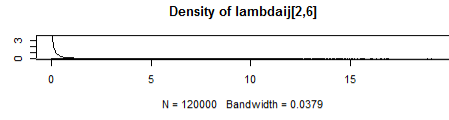
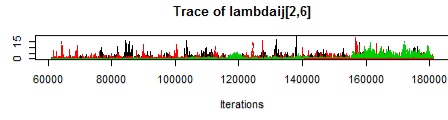
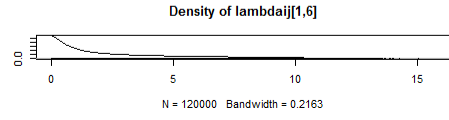
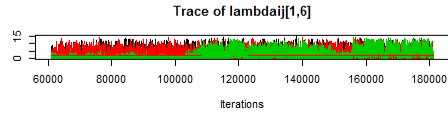
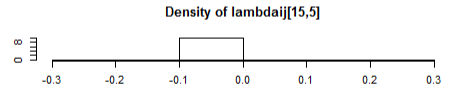
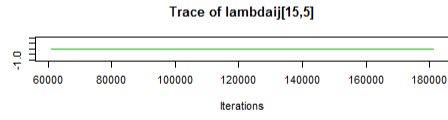
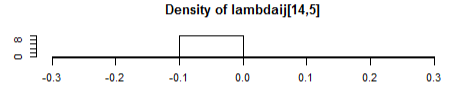
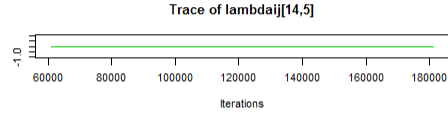
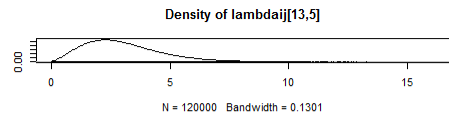
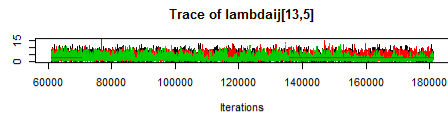


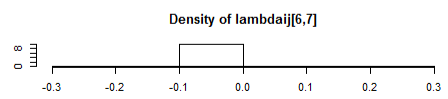
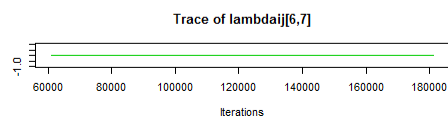
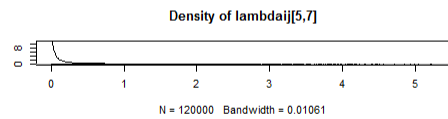
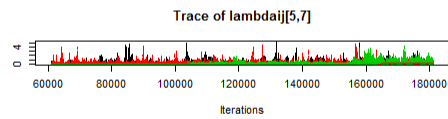
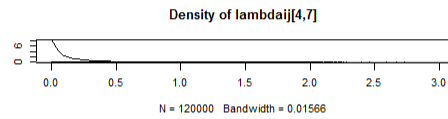
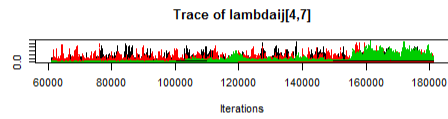
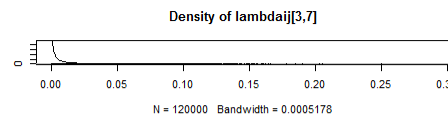
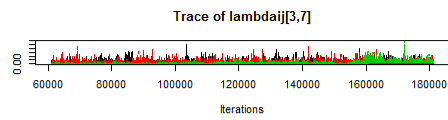
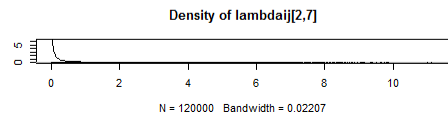
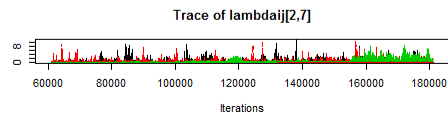
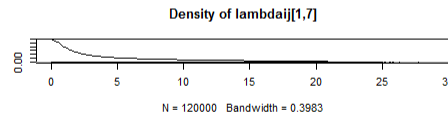
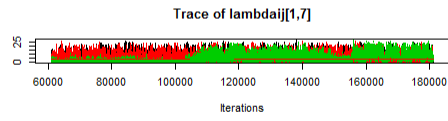
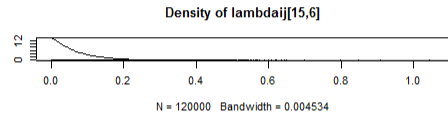
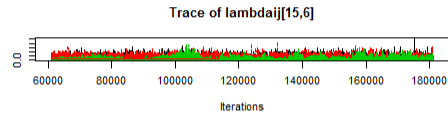
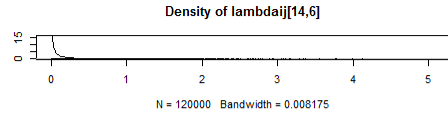
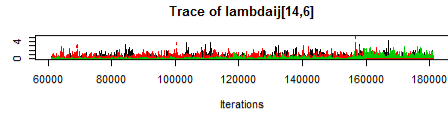
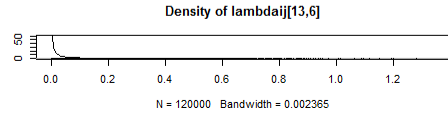
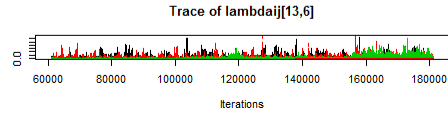
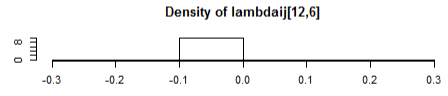
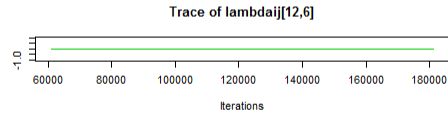
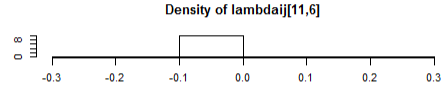
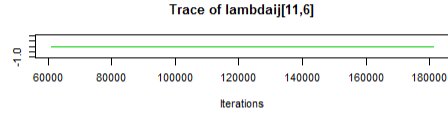
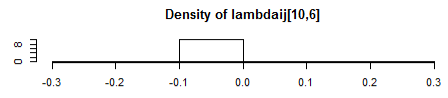
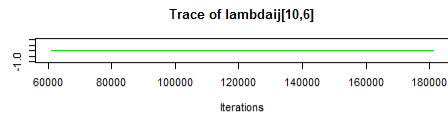


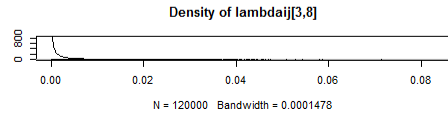
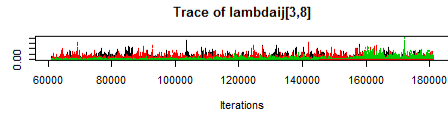
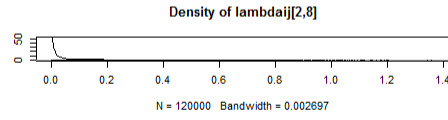
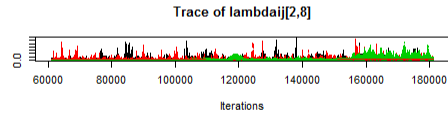
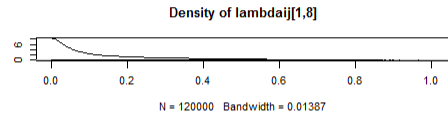
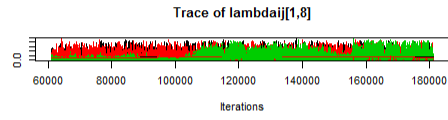
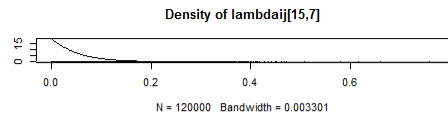
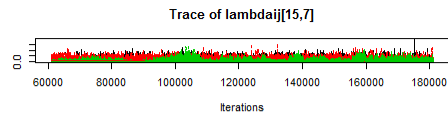
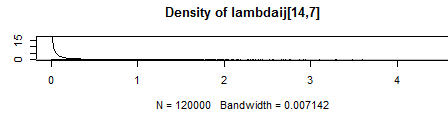
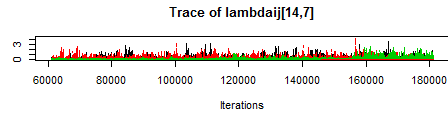
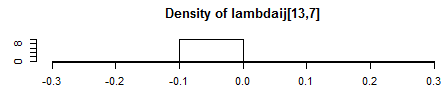
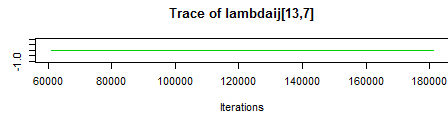
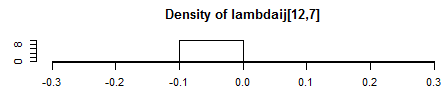
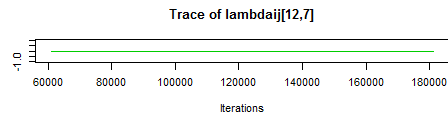
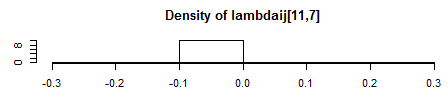
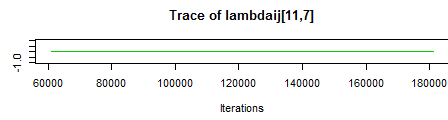
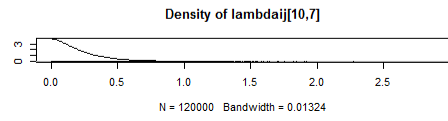
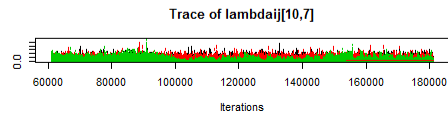
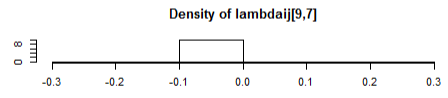
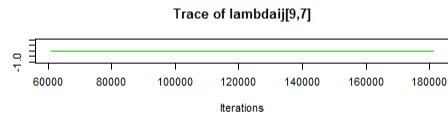
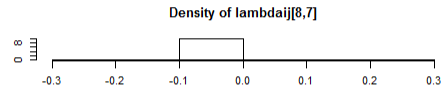
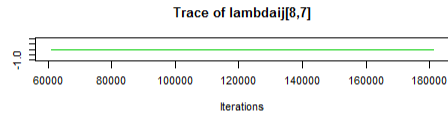
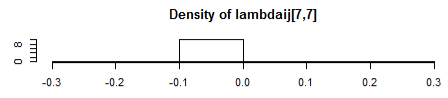
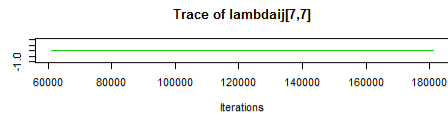




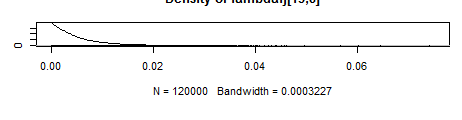
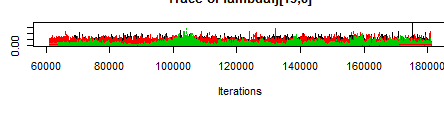
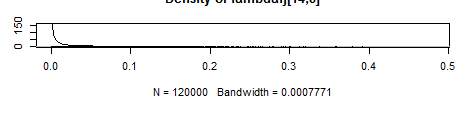
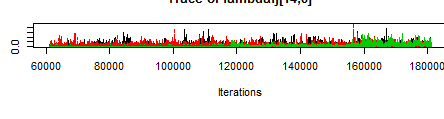
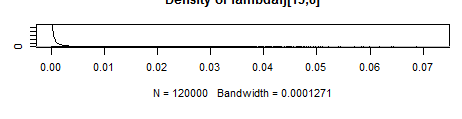
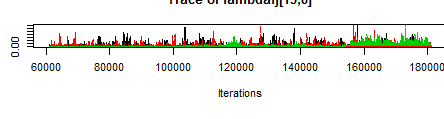
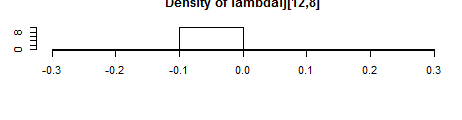
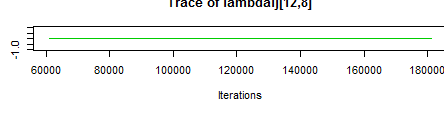
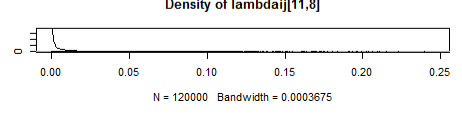
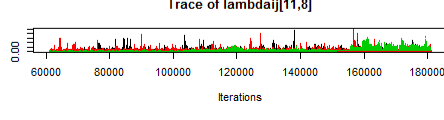
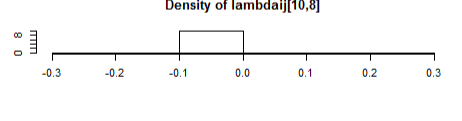
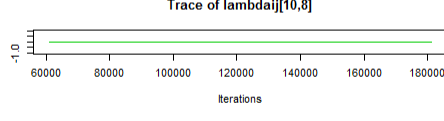
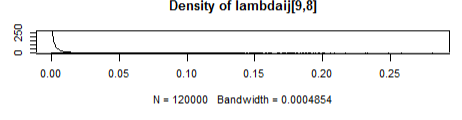
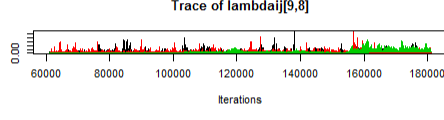
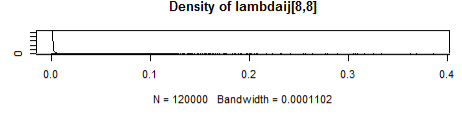
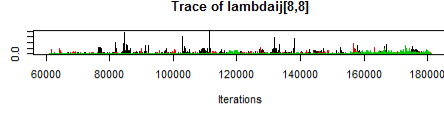
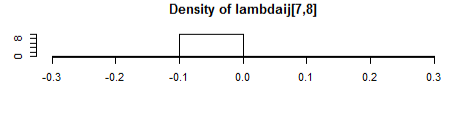
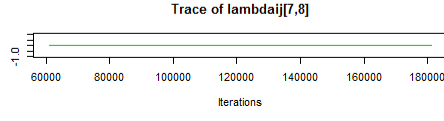
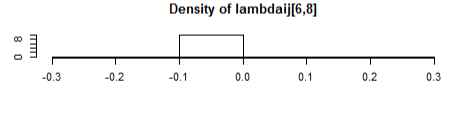
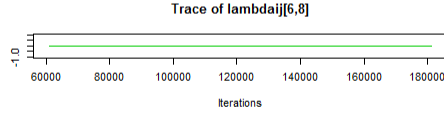
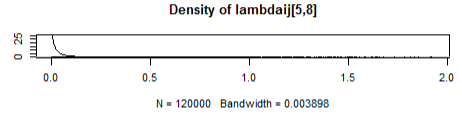
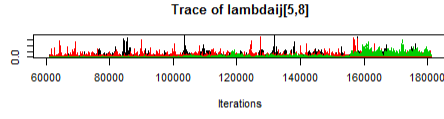
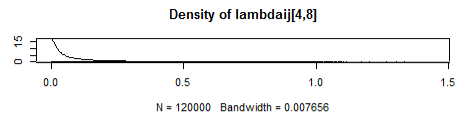
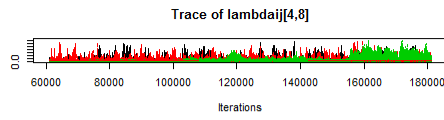


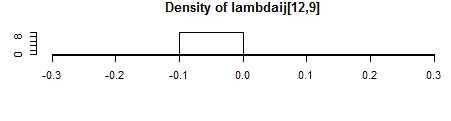
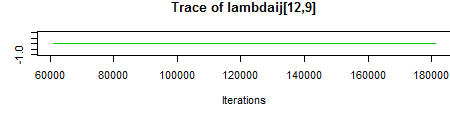
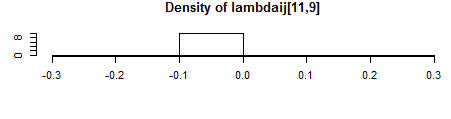
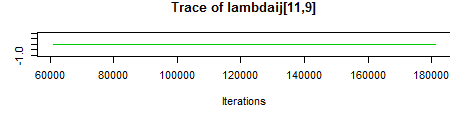
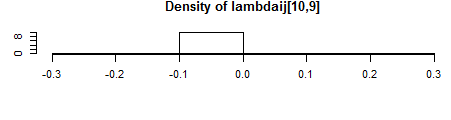
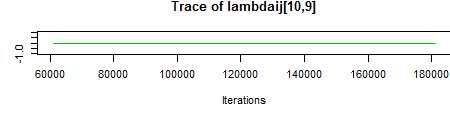
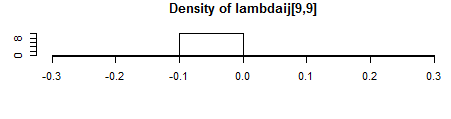
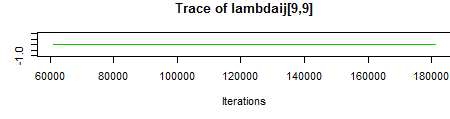
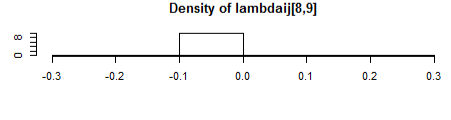
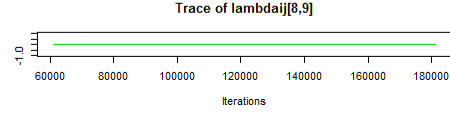
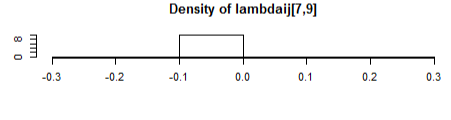
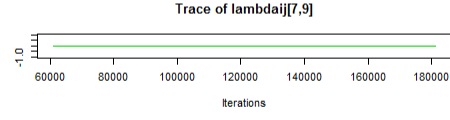
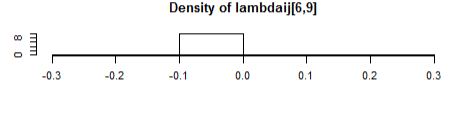
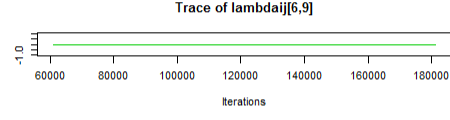
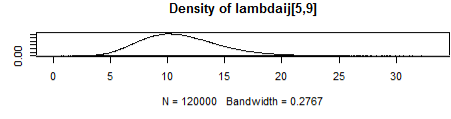
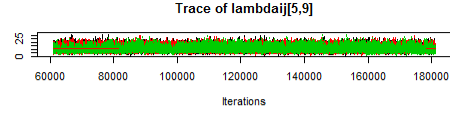
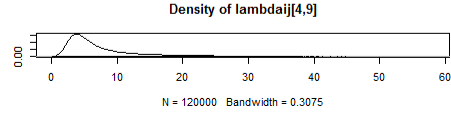
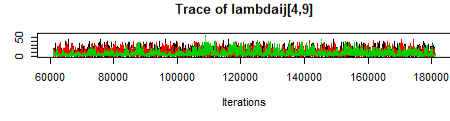
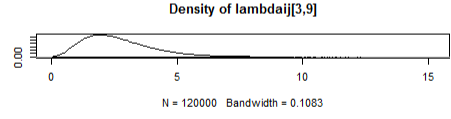
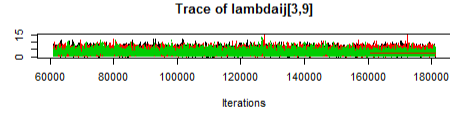
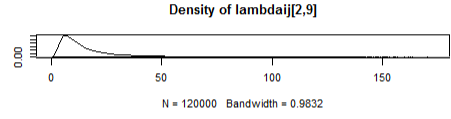
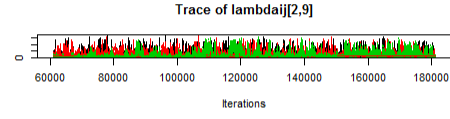
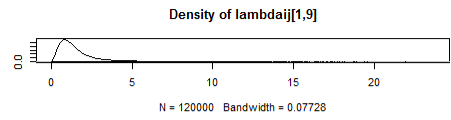
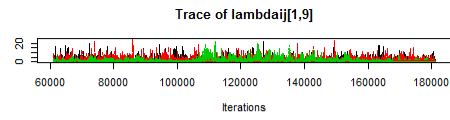


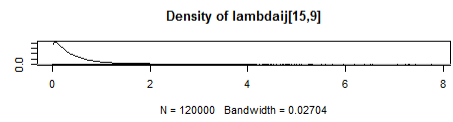
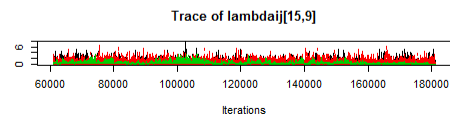
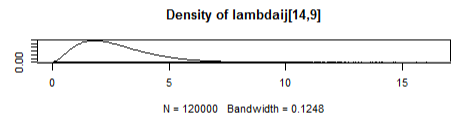
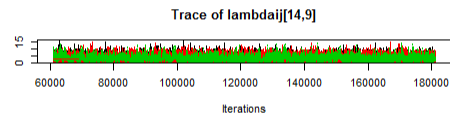
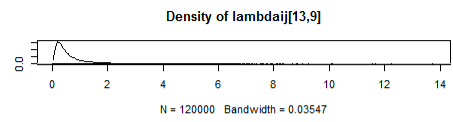
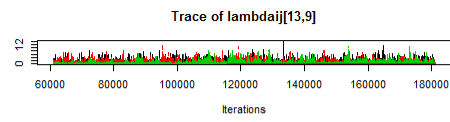




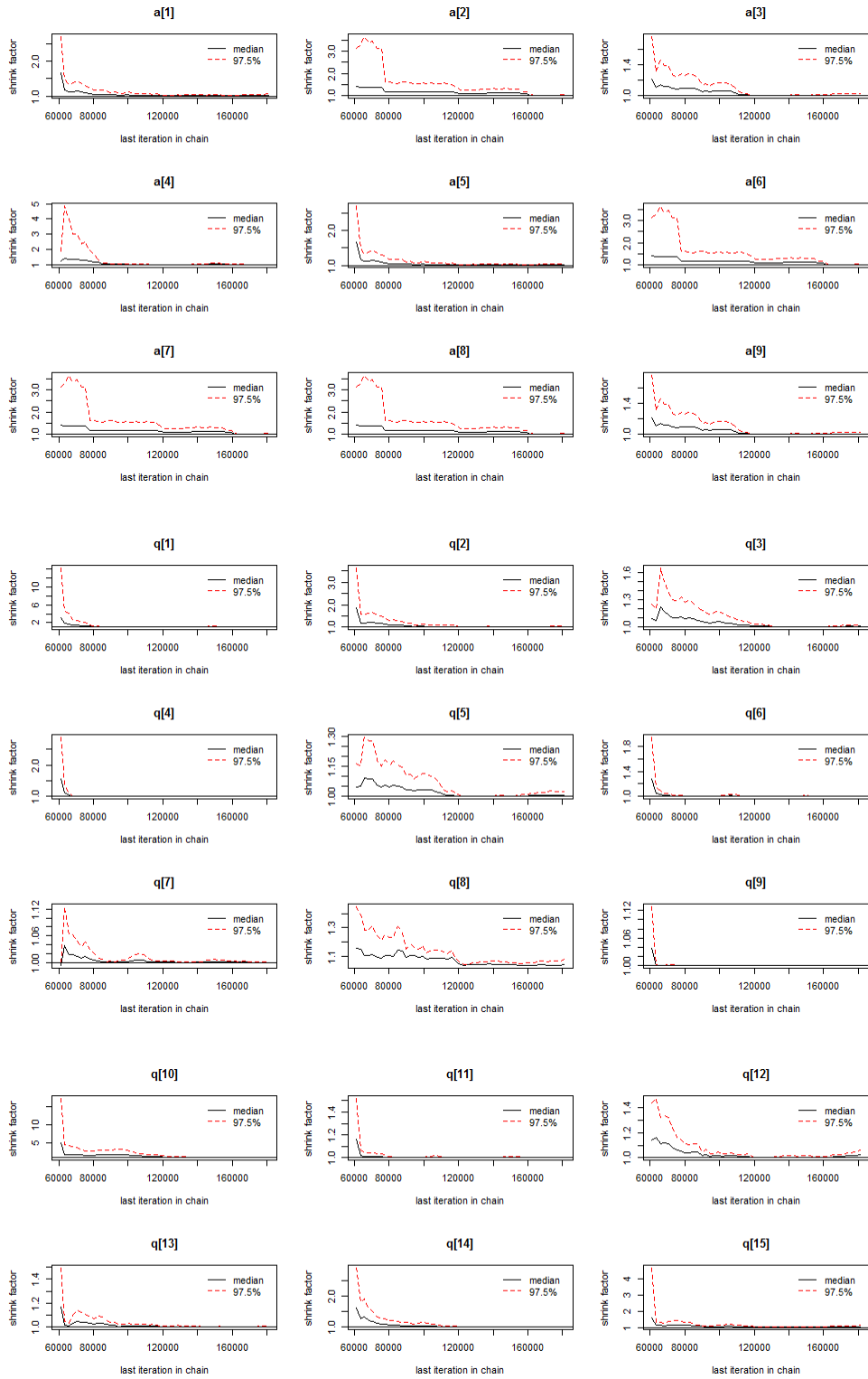








**APÊNDICE G – Plots de diagnóstico de Gelman e Rubin para os parâmetros  $a_j$  e  $q_i$ .**



APÊNDICE H – Plots de autocorrelação dos parâmetros  $a_j$  e  $q_i$ .

