

VIGILÂNCIA MOLECULAR COMO FERRAMENTA PARA DETECTAR *BRUCELLA SPP.*, EM LEITE E QUEIJOS ARTESANAIS NO RIO GRANDE DO NORTE, BRASIL

Data de aceite: 02/05/2024

Giovanni Brito Medeiros

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

Pirajá Saraiva Bezerra Neto

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

Denize Monteiro dos Anjos

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

Maria Luana Cristiny Rodrigues Silva

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

Sérgio Santos de Azevedo

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

Clebert José Alves

Universidade Federal de Campina Grande- UFCG. Campus Patos - Patos-PB

RESUMO: Introdução: Realizou-se um estudo para se caracterizar a situação epidemiológica do microrganismo patogênico *Brucella spp.* em leite *in natura* e queijos de coalho artesanal provenientes de agro indústrias familiares produtoras de queijos, no Nordeste Brasileiro. Os produtos de origem animal, como lácteos e seus e deri-

vados, podem contribuir para o surgimento de doenças em humanos; principalmente quando obtidos de animais infectados e que não tenham sido submetidos a tratamento térmico. As bactérias do gênero *Brucella spp.* representam um perigo biológico e com grande importância para a saúde única. **Metodologia:** Foram amostradas 18 amostras de leite cru e 18 amostras de queijo coalho, submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) com primer genérico para *Brucella spp.*, forward 5'-TCAGGCGCTTATAACCGA-AG-3' e reverse 5'-ATCTGCGCATAGGTCT-GCTT-3'. **Resultados:** Não se constatou o DNA de bactérias do gênero *Brucella spp.* nessas 18 amostras de leite e 18 amostras de queijo. **Discussão:** Atribui-se a não detecção de DNA nas amostras pesquisadas a fatores sugestivos, tais como: a maior parte dos animais já terem sido testados para brucelose (teste triagem Rosa Bengala) com resultados não reagentes; e, também, pelo fato do estado do Rio Grande do Norte registrar imunização antibrucélica muito baixa ($\leq 5\%$) até o ano de 2018, geração em que se encontram as atuais matrizes testadas. **Conclusões:** O resultado negativo não preconiza a real situação epidemiológica da brucelose bovina no Rio Grande do Norte; contudo, evidência a qualidade dos queijos de coalho

fabricados e comercializados na região estudada, podendo ser considerado seguro em relação à bactéria pesquisada.

PALAVRAS-CHAVE: queijo de coalho; leite *in natura*; *Brucella* spp; alimento seguro; saúde única.

MOLECULAR SURVEILLANCE AS A TOOL TO DETECT *BRUCELLA* SPP., IN MILK AND ARTISANAL COALHO CHEESES IN RIO GRANDE DO NORTE, BRAZIL

ABSTRACT: Introduction: A study was carried out to characterize the epidemiological situation of the pathogenic microorganism *Brucella* spp. in raw milk and artisanal Coalho cheese from family cheese-producing agro-industries in Northeast Brazil. Animal products, such as dairy products and their derivatives, can contribute to the development of diseases in humans; especially when obtained from infected animals and that were not thermally treated. Bacteria of the genus *Brucella* spp. represent a biological hazard and with great importance for One health. **Methodology:** 18 samples of raw milk and 18 samples of coalho cheese were sampled, observed by polymerase chain reaction (PCR) with a generic primer for *Brucella* spp, forward 5'-TCAGGCGCTTATAACCGAAG-3' and reverse 5'-ATCTGCGCATAGGTCTGCTT-3'. **Results:** DNA from bacteria of the genus *Brucella* spp. was not found in these 18 samples for raw milk and 18 samples of Coalho cheese. **Discussion:** The non-detection of DNA in the samples surveyed is attributed to suggestive factors, such as: most of the animals already have been tested for brucellosis (Rose Bengal screening test) with non-reactive results; and, also, due to the fact that the state of Rio Grande do Norte registers very low anti-brucella immunization ($\leq 5\%$) until 2018, generation in which the current lactating cows are found. **Conclusions:** The negative result of the tests does not reflect the real epidemiological situation of bovine brucellosis in Rio Grande do Norte; however, assure the quality of the milk and coalho cheeses tested, which can be considered safe in relation to the researched bacteria.

KEYWORDS: Coalho cheese; raw milk; *Brucella* spp; safe food; One health.

INTRODUÇÃO

A atividade leiteira vem aumentando rapidamente nos países em desenvolvimento e proporcionando contribuições significativas para a saúde, nutrição, meio ambiente e meios econômicos de subsistência. No entanto, os produtos de origem animal, principalmente leite e seus derivados, pode ser importante via de transmissão de agentes zoonóticos para humanos (GRACE; WU; HAVELAAR, 2020).

O queijo de coalho artesanal é um produto lácteo cru que é consumido em larga escala na região Nordeste brasileiro (MEDEIROS et al., 2020). Os queijos artesanais, feitos a partir de leite cru, são considerados produtos tradicionais no Brasil e em outras culturas ao redor do mundo, sendo reputados como uma estratégia de reprodução social e econômica sob a responsabilidade de agricultores familiares. Esse tipo de queijo é produzido pela adição de coalho ao leite podendo ser de origem animal, vegetal ou microbiana; sendo que a maioria dessas iguarias artesanais não passa por tratamento térmico e/ou maturação e representam fonte em potencial na transmissão de patógenos biológicos (MENEZES, 2011).

Nesse cenário, a produção artesanal de queijos nem sempre atende às boas práticas de fabricação estabelecidas pela legislação vigente no Brasil (BRASIL, 2019) e os requisitos não são atendidos especificamente em relação à higiene, o que torna o consumo desses produtos um perigo potencial na transmissão de agentes infecciosos (BRASIL, 2022a). No que diz respeito ao “fazer artesanal”, necessário para a concessão dos selos Arte e Queijo Artesanal, as queijeiras atendem ao que está preconizado na legislação. Esses produtos têm propriedades sensoriais únicas, diferenciadas e inerentes à região, tradição ou cultura onde são produzidos e esses selos agregam valor aos produtos de origem animal e permitem a livre comercialização em território nacional, caracterizando esses produtos como singular e genuíno (BRASIL, 2022b).

A forma mais comum de transmissão da brucelose para humanos é a ingestão de leite e seus derivados não beneficiados, principalmente quando obtidos de animais infectados. Bactérias do gênero *Brucella* spp. se alojam nas glândulas mamárias e linfonodos supra mamários de animais infectados, sendo o leite desses animais considerado uma fonte de patógenos (MOSLEMI et al., 2018).

A infecção de humanos por bactérias do gênero *Brucella* spp. através do consumo de produtos lácteos representa um sério perigo biológico, com grande importância para a saúde única (BÉJAOUÏ; BEN ABDALLAH; MAAROUFI, 2022). A presença desses microrganismos em queijos de coalho artesanais é preocupante, do ponto de vista sanitário; pois, a ingestão de lácteos é uma das principais formas pelas quais as pessoas podem se infectar com esse microrganismo (BEZERRA et al., 2019). Além disso, as perdas econômicas provocadas pela brucelose bovina são decorrentes de abortamentos, baixos índices reprodutivos, aumento do intervalo entre partos, diminuição da produção de carne e leite, morte de bezerros e interrupção de linhagens genéticas. Estimativas mostram que a infecção é responsável pela diminuição de 20 a 25% da produção de leite, 10 a 15% da produção de carne, 15% de perda de bezerros em decorrência de abortamentos, aumento de 30% da taxa de reposição de animais e aumento do intervalo entre partos de 11,5 para 20 meses (MACEDO DE OLIVEIRA et al., 2013).

A cadeia produtiva de leite e derivados constitui uma atividade econômica e social de elevada importância para o Estado do Rio Grande do Norte (RN). Ela gera ocupação e renda, e produz diariamente alimento na forma de leite ou derivados. Em relação às queijeiras artesanais, há mais de três centenas em funcionamento, especialmente no Território Seridó onde foram notificadas a existência de 314 unidades (SEPLAN-RN, 2016a). Culturalmente esse espaço geográfico é representado pela atual Região Geográfica Intermediária de Caicó, a qual produz 98,8 bilhões de litros de leite/ano, equivalente a 43,32% do leite do RN, e é uma das três regiões intermediárias do estado brasileiro do RN. É composta por 24 municípios, distribuídos em duas regiões geográficas imediatas: Caicó e Currais Novos (IBGE, 2017).

Visando fortalecer essa atividade, foi firmado entre o Governo do RN e o Banco Mundial “O Projeto RN Sustentável” (SEPLAN-RN, 2016b) com investimentos na ordem de R\$23.000.000,00 (vinte e três milhões de reais), os quais vêm financiando Projetos de Iniciativas de Negócios Sustentáveis para organizações associativas da cadeia produtiva do Leite e derivados da Agricultura Familiar, com estímulo à produção primária, beneficiamento e inserção dos produtos no mercado, bem como, à adequação de agroindústrias (queijeiras) da agricultura familiar no Território Seridó. Especificamente nesse Território, objetiva-se a estruturação das agroindústrias (queijeiras), de propriedade de agricultores familiares ligados a uma cooperativa da agricultura familiar, com vistas à regularização junto aos órgãos competentes para obtenção do selo de inspeção sanitária, podendo ser na esfera municipal, estadual ou federal.

O objetivo deste estudo foi instituir o procedimento de Vigilância molecular como ferramenta para detecção de *Brucella* spp., em leite e queijos artesanais produzidos no Rio Grande do Norte, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e seleção dos estabelecimentos

O estudo foi realizado em estabelecimentos produtores de queijos artesanais, apoiados pela parceria entre o Estado do RN e o Banco Mundial por meio de Projetos de Iniciativas de Negócios Sustentáveis para organizações associativas da cadeia produtiva do Leite e derivados da Agricultura Familiar, com estímulo à produção primária, beneficiamento e inserção dos produtos no mercado, bem como, à adequação de agroindústrias (queijeiras) da agricultura familiar no Território Seridó, financiando subprojetos no Território Seridó, onde o Plano de Negócios englobe cooperativas e seus cooperados (queijeiras), sendo permitido o valor máximo de R\$350.000,00 (trezentos e cinquenta mil reais) por participante. Esses estabelecimentos se diferenciam das queijeiras tradicionais por possuírem edificações recém-construídas, ou em fase final de construção, com suas instalações planejadas especificamente para a produção de queijos, dotadas de equipamentos feitos em aço inoxidável e com leiaute de produção bem definido (Figura 1).



Figura 1 – Estrutura arquitetônica padronizada e equipamentos inoxidáveis das agro indústrias familiares, produtoras de queijos de coalho artesanais, no estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

FONTE: o autor

O critério de seleção utilizado nesta pesquisa foi o de incluir somente aqueles estabelecimentos que produzissem queijo de coalho artesanal, elaboradas com leite cru, o que resultou na seleção de 18 queijeiras. Predominantemente o material deste estudo (83,3%) foi obtido na região intermediária Caicó; 11,1% na região Natal; e, 5,6% na região intermediária Mossoró (Figura 2).

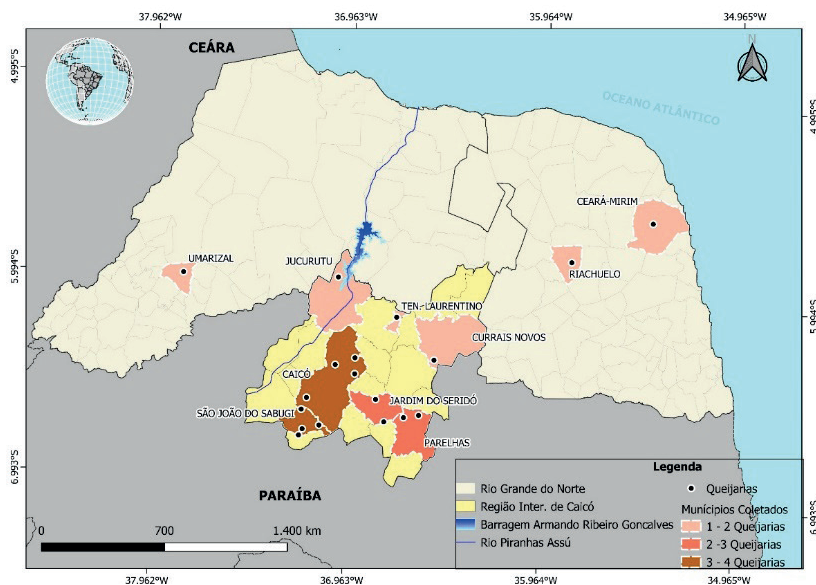


Figura 2 – Agro indústrias familiares, produtoras de queijos de coalho artesanais, no estado do Rio Grande do Norte, Brasil.

FONTE: o autor

Obtenção das amostras

As amostras foram obtidas no mês de fevereiro de 2023, nas unidades selecionadas. A amostragem constou de 3 etapas bem definidas: 1) colheita de leite cru, 30 ml; 2) amostras de queijo fresco 30 gramas, coletados até oito dias pós fabricação, ambas em tubos Falcon 50 ml previamente identificados e estéreis; esse material foi mantido sob refrigeração em caixa isotérmica com posterior congelamento (-18°C) até a realização das análises. 3) por último, a aplicação de um questionário estruturado para se conhecer melhor o perfil socioeconômico dos responsáveis pelos estabelecimentos produtores; também sobre as práticas de manejo dos rebanhos; e por fim, sobre a cadeia produtiva em estudo. Os dados obtidos nesse levantamento irão coadjuvar com a discussão dos resultados da pesquisa.

As análises foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus Patos.

Teste molecular

O DNA total das amostras de leite e de queijo foram extraídos, por meio do kit DNeasy blood and tissue (Qiagen, Hilden, Germany), seguindo as recomendações do fabricante. Foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) com primers genérico para *Brucella* spp, com os iniciadores forward 5'- TCAGGCGCTTATAACCGAAG-3' e reverse 5'- ATCTGCGCATAGGTCTGCTT-3' seguindo o protocolo de Ratushma *et al.* (2006). O DNA extraído da vacina R19 foi utilizado como controle positivo e água ultrapura como controle negativo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste molecular não constatou a presença do DNA bacteriano do gênero *Brucella* spp. nas 18 amostras de leite cru e nas 18 amostras de queijo de coalho artesanal. Resultado semelhante no Brasil foi encontrado por Andretta (2019) que pesquisaram em 53 amostras de queijo artesanal Serro, semiduro e maturado, proveniente da região sudeste. Diferente Miyashiro (2007) encontraram em 19,27% (37/192) DNA de amostra de campo e DNA vacinal em queijo informal, tipo minas frescal e minas curado, na região sudeste. E de Silva (2016) identificaram na região Amazônica DNA de amostra de campo e DNA vacinal em 21,21% (14/66), a pesquisa realizada em queijos tipo muçarela, queijo minas frescal, queijo minas, provolone, coalho, manteiga, cabacinha e queijo temperado de origem bovina e bubalina.

O resultado encontrado neste estudo pode estar relacionado a dois fatores principais sugestivos, sobre os quais discutiremos a seguir: 1) a maioria do material analisado ter sido obtido de animais sorologicamente testados e com resultados não reagentes; e, 2) ao histórico de baixas taxas de imunização antibrucélica de fêmeas bovinas, cepa B19, na área estudada.

O primeiro item está relacionado à sanidade do rebanho, considerando-se que mais da metade das propriedades já testaram seus animais para brucelose, teste rosa bengala, e classificados como não reagentes. Através da aplicação de questionário sistematizado, obteve-se informações de que a metade (09/18) dos entrevistados já haviam testado cem por cento de seus rebanhos; inclusive, um deles possuindo a condição de rebanho com certificação livre para as doenças do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose – PNCEBT. As outras situações detectadas foram 16,6% (03/18) com parte dos rebanhos com os testes já realizados e 38,9% (07/18) com animais sem testagem, ainda. Algumas dessas queijeiras, pois, estavam em fase de licenciamento no período da pesquisa e trabalhando para implementar as exigências legais.

Apesar de se tratar de um requisito legal, conforme o artigo 6º da Lei 13.860 de 2019, Brasil (2019), a elaboração de queijos artesanais a partir de leite cru fica restrita a queijaria situada em estabelecimento rural certificado como livre de tuberculose e brucelose, de acordo com as normas do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT), ou controlado para brucelose e tuberculose por órgão estadual de defesa sanitária animal, no prazo de até 3 (três) anos a partir da publicação desta Lei, sem prejuízo das demais obrigações previstas em legislação específica.

Constata-se um outro fato que certamente influenciou a não detecção do DNA bacteriano vacinal. Está relacionado à baixíssima taxa de imunização de fêmeas bovinas com vacina B19 no território pesquisado. Em averiguação retrospectiva em dados secundários, analisados para se estimar a taxa de cobertura vacinal da vacinação antibrucélica com a cepa B19 e disponibilizados pelo Instituto de Defesa e Inspeção Sanitária do Rio Grande do Norte (IDIARN), comprovou-se ser vil a utilização desse imunobiológico pelos pecuaristas do estado, apesar de ser um procedimento compulsório.

A situação presente é preocupante; pois, ainda que tenha ocorrido um incremento progressivo na taxa de imunização de 2,9% em 2015 a 5,9% em 2018, chegou a alcançar 51,6% em 2019. Porém, provavelmente em virtude da recente pandemia, registra-se redução nessa taxa da cobertura vacinal, baixando para 18,9% e 11,6% nos anos 2020 e 2021, respectivamente. Esses dados colhidos junto ao órgão do Serviço Veterinário Estadual concordam com o que está publicado no Diagnóstico Situacional do PNCEBT, cuja taxa mínima aceitável dever ser 80% de animais vacinados (BRASIL, 2020).

A vacinação de bezerras, com a vacina B19, gera resultados econômicos vantajosos, como relato por Ferreira (2023) no estado de Rondônia, região Norte do Brasil, para cada US\$ 1,00 investido no controle da doença, gerou um retorno de US\$ 1,7 para o setor socioeconômico, com a redução da prevalência de rebanhos infectados de 35,2%, para 12,3% e das fêmeas soropositivas de 6,22% para 1,9%, após um bem-sucedido programa de vacinação de fêmeas jovens, em 2004 a vacinação de 80%, nos anos seguindo continuo acima desse valor, atingindo 88% em 2014.

Um questionário epidemiológico sistematizado foi aplicado para se conhecer o perfil socioeconômico e o nível de conhecimento do pessoal responsável pela elaboração desses queijos artesanais. Sobre o nível de escolaridade dos proprietários pelos estabelecimentos o perfil é otimista, pois todos frequentaram, pelo menos, o ensino fundamental; a maioria deles respondeu ter cursado o ensino fundamental completo 83,3% (15/18 e três estão cursando ensino superior. Não houve registros de analfabetos no grupo entrevistado. Certamente, esse nível educacional possibilita haver avanços no nível de conhecimento teórico sobre a atividade; segundo se constatou nas entrevistas o fato de todos eles terem participado de treinamento ou capacitação sobre produção segura de queijos e boas práticas de fabricação.

Avaliando-se o apoio em relação a assistência técnica, direcionada aos profissionais e a sua atividade produtiva, 100% (18/18) receberam treinamentos, sendo o Serviço 100% (18/18) deles recebem assistência técnica direcionada a sua atividade produtiva; sendo o Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae) citado como o principal fomentador desse suporte técnico. O fornecimento desses serviços também é disponibilizado por órgãos públicos e do setor privado, ou por mais de um deles. Em concordância com Simões (2021) consideramos ser de extrema importância estimular programas governamentais de apoio aos agricultores familiares para o cumprimento das regulamentações ecológicas, podendo se afirmar que a política de assistência técnica e extensão rural é um instrumento de geração de renda no Brasil.

De acordo com a regulamentação vigente (Brasil, 2022b), sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal, devem possuir qualificação técnica em boas práticas agropecuárias na produção artesanal e na fabricação de produtos artesanais. A valorização dos produtos locais, tradicionais e artesanais são muitos e envolvem uma cadeia organizada por diferentes atores e suas competências: produtores, técnicos, pesquisadores, instituições de fomento e fiscalização e consumidores (SANTOS; CRUZ; MENASCHE, 2012).

No tocante à renda familiar, observou-se ser variada. A maioria deles 61,1% (11/18) informaram ter remuneração na faixa de um a três salários mínimos, vigentes no período da entrevista. Desses, dois informaram ter renda inferior a um salário mínimo. A atividade de produzir queijos representava pelo menos cinquenta por cento da renda das famílias (11/18), de maneira que para duas delas a atividade respondia por 100% da receita da família. A produção artesanal de queijos é importante no meio rural do Agreste e Sertão nordestino, ao dinamizar a economia em municípios de pequeno porte, constituindo em renda principal ou na complementação da renda das famílias, contribui para a circulação de renda no próprio município e desacelera o êxodo rural (MENEZES, 2011).

Todos os estabelecimentos incluídos neste estudo eram produtores Queijo de Coalho Artesanal; contudo, somente três eram exclusivos a esse produto. Constatou-se que a maioria deles era produtora dos queijos de coalho e de manteiga 66,6% (12/18). O Queijo de Coalho é entendido como um alimento identitário, produzido e consumido no espaço geográfico nordestino e ultrapassa fronteiras demandado pelos migrantes que buscam no consumo desse produto uma aproximação ao seu território (MENEZES, 2011) .

Um dado preocupante foi o de saber o baixo valor agregado ao queijo produzido. A grande maioria 77,7% (14/18) declarou agregar até R\$ 30,00 (trinta reais) para cada quilograma do produto. A minoria 22,2% (04/18) consegue agregar um valor maior, variando de R\$ 30,00 a R\$ 60,00 (sessenta reais). Tal fato pode ser atribuído a apresentação dos queijos ao consumidor; uma vez que grande parte desses produtores (14/18) produzem e comercializam em embalagens com peso igual ou maior a 500 gramas.

Obteve-se informações sobre o volume de soro obtido nesses estabelecimentos, cujo volume declarado variou. A maioria 83,3% (15/18) declarou alcançar um volume de 2.500 a 15.000 litros/mês. Foi constatado que esse subproduto do leite é destinado, na sua grande maioria, para alimentação animal. Os estabelecimentos 94,4% (17/18) informaram destiná-lo à alimentação. Foi relatado ainda a utilização do soro lácteo para a elaboração de queijo ricota 16,6% (03/18). De acordo com (PAULA et al., 2012), o uso desse subproduto pode ser melhor utilizado, uma vez que a tecnologia de fabricação empregada na elaboração da bebida láctea é simples, de baixo custo e não necessitando de grandes investimentos para ser implementada. Desse modo, a utilização do soro de leite proveniente da fabricação de queijo de Coalho para elaboração de bebida láctea, agrega valor nutritivo e pode gerar receitas, podendo ser uma alternativa viável para o aproveitamento ecológico racional e sustentável do soro.

CONCLUSÕES

A ferramenta de vigilância molecular não detectou a presença de *Brucella* spp. em amostras de leite utilizados para fabricação de queijos artesanais e possibilitou se conhecer o perfil socioeconômico, as práticas de manejo dos animais envolvidos e o conhecimento técnico dos responsáveis acerca da cadeia de queijo de coalho artesanal.

Além disso, proporcionou confirmar a ausência de estudos sistematizados e oficialmente validados pelo Serviço Veterinário Oficial que indiquem a verdadeira prevalência da doença no Rio Grande do Norte e comprovar a baixíssima cobertura vacinal das fêmeas com idade compreendida entre 3 a 8 meses.

Os resultados evidenciaram a qualidade dos queijos de coalho fabricados e comercializados na região estudada, podendo serem considerados relativamente seguros.

Espera-se que os resultados nesta pesquisa possam subsidiar melhorias nas práticas de produção animal, bem como na elaboração de produtos e derivados; além disso, encorajar os órgãos de defesa sanitária e inspeção animal a executarem suas prerrogativas em relação ao que está posto na legislação vigente.

AGRADECIMENTOS

Aos produtores de Queijo de Coalho Artesanal que participaram desta pesquisa por colaborarem com a doação do material pesquisado e pelo consentimento em responderem o questionário epidemiológico.

REFERENCIAS

ANDRETTA, M. et al. Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10790–10798, dez. 2019.

BÉJAOU, A.; BEN ABDALLAH, I.; MAAROUFI, A. Brucella spp. Contamination in Artisanal Unpasteurized Dairy Products: An Emerging Foodborne Threat in Tunisia. **Foods**, v. 11, n. 15, 2022.

BEZERRA, S. S. et al. Detection of brucella spp. In artisan cheese commercialized in parnaíba, piauí state, Brazil. **Medicina Veterinária (Brazil)**, v. 13, n. 1, p. 33–37, 2019.

BRASIL. **Lei Nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências.** www.agricultura.gov.br. 2019.

BRASIL. **Diagnóstico Situacional do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT.** 1ª Edição ed. Brasília-DF: Biblioteca Nacional de Agricultura - BINAGRI, 2020.

BRASIL. **Portaria Nº 531, de 16 de dezembro de 2022. Estabelece requisitos para concessão dos selos ARTE e Queijo Artesanal pelos órgãos de agricultura e pecuária.** www.agricultura.gov.br. Brasília-DF, Brasil, 2022a.

BRASIL. Decreto Nº 11.099, de 21 de junho de 2022. **Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal.** **Diário Oficial da União**Brasil, 2022b.

FERREIRA, B. F. S. et al. Economic analysis of bovine brucellosis control in the Rondônia state, Brazil. **Tropical animal health and production**, v. 55, n. 3, p. 225, 25 maio 2023.

GRACE, D.; WU, F.; HAVELAAR, A. H. MILK Symposium review: Foodborne diseases from milk and milk products in developing countries—Review of causes and health and economic implications. **Journal of Dairy Science**, v. 103, n. 11, p. 9715–9729, 2020.

IBGE. **Censo Agropecuário 2017, Resultados definitivos.** Disponível em: <https://censoagro2017.ibge.gov.br/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html?localidade=0&tema=75657>. Acesso em: 12 mar. 2023.

MACEDO DE OLIVEIRA, R. et al. **Soroepidemiologia da leptospirose e brucelose bovina em propriedades rurais de agricultura familiar do agreste paraibano, Nordeste do Brasil** Seroepidemiology of bovine leptospirosis and brucellosis in family farm rural properties in the State of Paraíba, Arq. Inst. Biol. [s.l.: s.n.].

MEDEIROS, G. B. et al. Detection of mycobacteria in coalho cheese sold in Northeastern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 42, n. 1, p. 439–446, 2020.

MENEZES, S. DE S. M. Queijo de Coalho: tradição cultural e estratégia de reprodução social na Região Nordeste. **Revista de Geografia - UFPE**, v. 28, n. 1, p. 40–56, 2011.

MIYASHIRO, S. et al. Detection of *Brucella abortus* DNA in illegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of B19 vaccinal strain by means of the polymerase chain reaction (PCR). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 38, n. 1, p. 17–22, mar. 2007.

MOSLEMI, E. et al. Detection of *brucella* spp. in dairy products by real-time PCR. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2018.

PAULA, J. C. J. DE et al. Use of coalho cheese whey in the pasteurized dairy drink elaboration. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 387, p. 13–20, 2012.

SANTOS, J.; CRUZ, F. DA; MENASCHE, R. O mineiro, o queijo e os conflitos (nada poéticos) em torno dos alimentos tradicionais produzidos artesanalmente no Brasil. **Revista de economia Agrícola**, v. 59, n. 2, p. 7–19, 2012.

SEPLAN-RN. **Projeto RN Sustentável. Edital N° 005/2016 - Chamada Pública a Projetos de apoio a cadeia produtiva do leite e derivados da Agricultura Familiar no Rio Grande do Norte**. Brasil, 2016b.

SILVA, J. et al. *Brucella abortus* detected in cheese from the Amazon region: Differentiation of a vaccine strain (B19) from the field strain in the states of Pará, Amapá and Rondônia, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n. 8, p. 705–710z, 2016.

SIMÕES, M. DA R. S. A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL A PRODUTORES DE BASE FAMILIAR. **Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação**, v. 7, n. 2, p. 1058–1076, 29 abr. 2021.