

SUBMETIDO 16/08/2024

APROVADO 18/11/2024

PUBLICADO ON-LINE 19/12/2024

VERSÃO FINAL DIAGRAMADA 16/10/2025

EDITOR ASSOCIADO

Prof. Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela

doi <https://doi.org/10.18265/2447-9187a2025id8645>
ARTIGO ORIGINAL

Desenvolvimento de um plano de APPCC para o diagnóstico de mastite subclínica em uma granja leiteira com base na análise de *Staphylococcus aureus*

 Thainara dos Santos
Fonseca ^[1]

 Ana Karina
da Silva Cavalcante ^[2] *

 Isabella de Matos
Mendes da Silva ^[3]

 Ludmilla Santana
Soares e Barros ^[4]

[1] thainarafonseca@aluno.ufrb.edu.br

[2] karina@ufrb.edu.br

[3] isabellamatos@ufrb.edu.br

[4] barros@ufrb.edu.br

Universidade Federal do Recôncavo
da Bahia (UFRB), Cruz das Almas,
Bahia, Brasil

* Autor para correspondência.

RESUMO: A produção de leite bovino enfrenta desafios significativos devido a várias doenças. A mastite é uma das principais causas de perdas produtivas na cadeia leiteira, afetando de 20% a 38% do rebanho bovino brasileiro. O controle efetivo da mastite é essencial para melhorar os sistemas de produção, sendo a identificação do agente causador uma etapa crucial para a implementação de um programa de controle adequado. Esse reconhecimento alicerça decisões baseadas em dados, permitindo a identificação precisa dos estágios de produção ou manejo que predisõem os animais à doença. Com base na análise de *Staphylococcus aureus*, o presente estudo teve como objetivo desenvolver um plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) para diagnóstico de mastite subclínica em uma granja leiteira. Testes clínicos, bioquímicos e microbiológicos foram conduzidos no leite de 20 vacas submetidas à ordenha mecânica diária na fazenda. Esses testes se mostraram rápidos e fáceis de aplicar, sem interferir na rotina do laticínio. Os resultados das análises identificaram alterações no leite compatíveis com mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*. O plano APPCC, desenvolvido com base nessas descobertas, está em conformidade com a legislação vigente, que determina seu uso como ferramenta preventiva e estratégica de gestão da qualidade do leite. A proposta foi entregue à granja leiteira, permitindo a identificação de Pontos Críticos de Controle biológico, químico e físico durante as etapas de produção e facilitando a implementação de medidas corretivas em cada ponto crítico identificado.

Palavras-chave: Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle; controle de qualidade; Doenças Transmitidas por Alimentos; gado bovino; leite.

Development of a HACCP plan for the diagnosis of subclinical mastitis

on a dairy farm based on the analysis of *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT: Bovine milk production faces significant challenges due to various diseases. Mastitis is one of the primary causes of productive losses in the dairy chain, affecting 20% to 38% of the Brazilian cattle herd. Effective mastitis control is essential for improving production systems, with the identification of the causative agent being a crucial step for implementing an adequate control program. This identification enables data-driven decisions, allowing for precise recognition of the production or management stages predisposing animals to the disease. Based on *Staphylococcus aureus* analysis, the present study aimed to develop a Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) plan for diagnosing subclinical mastitis in a dairy farm. Clinical, biochemical, and microbiological tests were conducted on milk from 20 cows subjected to daily mechanical milking at the farm. These tests proved quick and easy to apply, without interfering with the dairy's routine. The results of the analyses identified changes in milk compatible with subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. The HACCP plan, which was developed on the basis of these findings, complies with current legislation that determines its use as a preventive tool and a milk quality management strategy. The plan was delivered to the dairy farm, enabling the identification of biological, chemical, and physical critical control points during production stages and facilitating the implementation of corrective measures at each identified critical point.

Keywords: cattle; Foodborne Diseases; Hazard Analysis and Critical Control Points; milk; quality control.

1 Introdução

A indústria alimentícia desempenha um papel essencial na economia mundial, dado que os alimentos são componentes indispensáveis para qualquer nação. Independentemente da posição ocupada na cadeia produtiva, a segurança dos produtos representa uma preocupação central para todos os agentes comerciais. Ademais, consumidores cada vez mais conscientes sobre a relação entre alimentação, dieta e saúde têm demonstrado maior interesse em alimentos seguros. As empresas garantem elevados níveis de segurança alimentar por meio do uso de instrumentos de controle destinados a mitigar os riscos aos quais os produtos estão expostos (Radu *et al.*, 2023; Santos; Barros, 2021; Vilar *et al.*, 2012; Zafalon *et al.*, 2022).

A segurança alimentar deve ser garantida em todas as etapas da cadeia produtiva. A qualidade do leite tratado termicamente para consumo e dos produtos derivados do leite é consequência direta de todas as atividades realizadas ao longo do processo produtivo, desde a fazenda até o processamento industrial. Entretanto, a qualidade do leite cru ou de produtos lácteos elaborados diretamente nas fazendas depende das características e do gerenciamento implementado nessas unidades. A presença de patógenos zoonóticos no leite constitui um risco significativo para a saúde pública. Além disso, alterações na qualidade desse leite frequentemente decorrem de elevadas contagens bacterianas, particularmente de bactérias psicrótroficas, que podem proliferar

e alterar suas características sensoriais (Marques; Pires; Leães, 2020; Radu *et al.*, 2023; Rossi *et al.*, 2018; Silva *et al.*, 2023; Vilar *et al.*, 2012; Youssif *et al.*, 2021).

Em vacas leiteiras, *Staphylococcus* spp. destaca-se como um dos principais patógenos associados a infecções intramamárias, apresentando a expressão de genes responsáveis por fatores de virulência, como a formação de biofilmes. Dentro desse grupo, o *S. aureus* é considerado um patógeno contagioso, capaz de se adaptar à glândula mamária e de se disseminar entre os animais durante a ordenha. Sua estratégia de sobrevivência intracelular está associada a infecções subclínicas e recorrentes, as quais representam desafios significativos para o tratamento e causam perdas econômicas aos produtores de leite. Assim, mecanismos de prevenção emergem como a estratégia mais eficiente e eficaz para o controle desse patógeno (Aragão *et al.*, 2020; Castro, 2019; Ferreira *et al.*, 2022; Leite, 2022; Pereira *et al.*, 1999; Poll, 2020).

As perdas econômicas associadas à mastite causada por *S. aureus* incluem aumento na contagem de células somáticas (CCS), redução na produção leiteira e maior potencial de transmissão para outros animais do rebanho. Dessa forma, a realização de diagnósticos específicos para a identificação do *S. aureus* é essencial para aprimorar os tratamentos e reduzir as perdas produtivas (Silva *et al.*, 2023).

Diante desse cenário, torna-se indispensável investigar a qualidade do leite e os agentes que comprometem sua composição e integridade, possibilitando que granjas leiteiras implementem medidas de controle e prevenção para mitigar perdas dessa matéria-prima essencial. Considerando o amplo consumo de leite na dieta humana, as indústrias de laticínios são submetidas a rigorosas fiscalizações e devem atender a normas específicas para garantir a qualidade do produto, incluindo a adoção do sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) (ANVISA, 2022; Benedito Júnior *et al.*, 2019; Santos; Barros, 2021; Santos *et al.*, 2020; Vilar *et al.*, 2012).

Ressalta-se que falhas nos procedimentos higiênico-sanitários durante a fabricação de alimentos aumentam o risco de contaminação por agentes físicos, químicos e microbiológicos, o que pode resultar em Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Água e laticínios estão entre os alimentos mais frequentemente associados a surtos de DTA registrados entre 2007 e 2023 no Brasil, conforme dados publicados pelo governo e por pesquisadores da área (Aragão *et al.*, 2020; Brasil, 2024; Caracuschanski *et al.*, 2022; Oliveira, 2023; Santos; Barros, 2021).

O sistema APPCC é amplamente reconhecido como o melhor sistema de gestão da segurança alimentar em nível global. Inicialmente desenvolvido pela NASA para garantir a segurança dos alimentos em programas espaciais, o APPCC foi posteriormente implementado em todas as atividades da indústria alimentícia, abrangendo produção, transporte, embalagem, armazenamento e comercialização de produtos alimentícios (Almeida; Tarrento, 2021; ANVISA, 2022; Benedito Júnior *et al.*, 2019; Radu *et al.*, 2023; Vezalli *et al.*, 2022; Vilar *et al.*, 2012).

Assim, com base em análises econômicas, técnicas e científicas, o objetivo deste estudo foi desenvolver um plano de APPCC para granjas leiteiras, tendo como foco o diagnóstico da mastite subclínica por meio da análise de *Staphylococcus aureus*. Com o desenvolvimento deste trabalho, buscou-se avaliar a qualidade e a integridade do leite, contribuindo para o aprimoramento das práticas em granjas leiteiras. Os resultados obtidos e a elaboração do APPCC poderão fomentar pesquisas na área de Medicina Veterinária Preventiva e Inspeção de Produtos de Origem Animal no Recôncavo da Bahia, uma região marcada por recorrentes falhas nos critérios higiênicos para a produção segura de alimentos, conforme demonstrado em estudos anteriores que apontam implicações

jurídicas e sanitárias (Barros; Santos; Silva, 2018; Batista *et al.*, 2014; Deus *et al.*, 2017; Rodrigues *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2018; Santos; Barros, 2021).

Para a realização deste estudo, as atividades foram executadas em duas etapas. Na primeira, identificou-se a ocorrência de mastite subclínica pela presença de *Staphylococcus aureus* em 20 fêmeas bovinas. Para isso, foram realizados seis tipos de testes, incluindo a determinação da carga bacteriana total, carga de *S. aureus*, avaliação microbiológica, análise do pH do leite e a contagem de células somáticas. Na segunda, realizou-se um estudo dos riscos e pontos críticos de controle durante o processo na granja, sendo elaborado um plano de APPCC direcionado a essa atividade. Considerando que o APPCC é um documento obrigatório segundo a legislação vigente e que o local onde o experimento foi conduzido ainda não dispunha de tal ferramenta, o plano elaborado durante o estudo foi entregue à granja leiteira, atendendo ao objetivo proposto neste trabalho.

O restante deste artigo está estruturado nas seguintes seções: a seção 2 aborda aspectos relacionados às boas práticas de fabricação, à análise de perigos e pontos críticos de controle, aos procedimentos padrão de higiene operacional e a programas de autocontrole. A seção 3 descreve a metodologia empregada pelos autores na investigação dos riscos de contaminação bacteriana do leite produzido por uma fazenda. Posteriormente, na seção 4, são apresentados os resultados obtidos a partir das análises do leite e o plano de APPCC proposto para a fazenda avaliada. Por fim, na seção 5, encontram-se as conclusões acerca dos resultados alcançados com base nas atividades realizadas.

2 Referencial teórico

A mastite é uma das doenças mais comuns do gado leiteiro, sendo caracterizada pela inflamação da glândula mamária, em decorrência de múltiplos fatores, entre eles: mecânicos, físicos e biológicos. Pode ser classificada em clínica ou subclínica, de acordo com os sinais clínicos do animal (Andreeva *et al.*, 2024).

As Doenças Transmitidas por Alimentos são frequentemente causadas pela ingestão de leite e derivados contaminados com coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* spp., *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* spp. Um exemplo disso é o alto índice de contaminação identificado em amostras de queijo minas frescal produzido artesanalmente (86,7%) e naquele inspecionado pelos serviços estaduais e federais de inspeção (66,7%). Esses resultados demonstram o não cumprimento da legislação, refletindo as deficiências existentes nas condições higiênico-sanitárias e na fiscalização efetiva (Salotti *et al.*, 2006).

A mastite subclínica é mais prevalente em rebanhos leiteiros quando comparada à mastite clínica, com ocorrência variando entre 20% em rebanhos de alta produção e 50% em rebanhos de baixa produtividade (Hossain *et al.*, 2017; Shaheen; Tantar; Nabi, 2016). Por ser assintomática, essa condição costuma não ser detectada de forma imediata. Nesse contexto, os testes de Contagem de Células Somáticas (CCS) e o *California Mastitis Test* (CMT) destacam-se como os métodos mais utilizados para detecção, devido ao baixo custo e à facilidade de aplicação em rebanhos leiteiros (Rossi *et al.*, 2018). O aumento da CCS no leite é um indicador típico da mastite, sendo o isolamento microbiológico de *Staphylococcus aureus* associado a altos níveis dessa contagem um indicativo de infecção (Kivaria; Noordhuizen; Nielen, 2007).

Os programas de pré-requisitos, como as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e os Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO), têm como foco o controle

preventivo dos perigos ao longo de todas as etapas do processo produtivo, e não apenas na inspeção final do produto. Essa abordagem preventiva é essencial para a realização de estudos sistemáticos sobre os fatores de risco que podem comprometer a segurança dos alimentos. Quando há integração e sinergia entre os diferentes programas de controle, as BPF e os PPHO tornam-se fundamentais para a redução de contaminações e para o alcance de padrões elevados de qualidade e inocuidade alimentar (Rocha *et al.*, 2018).

O Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) regulamentou, em 2003, as diretrizes para a implantação e execução dos programas de pré-requisitos em estabelecimentos de leite e derivados sob inspeção federal, com atualização normativa em 2018 (Brasil, 2018a). Além disso, o Manual de Procedimentos para Implantação do Sistema APPCC em indústrias de produtos de origem animal, elaborado pelo MAPA, ressalta o Programa de Autocontrole (PAC) como pré-requisito fundamental, estruturado com base nas BPF. A sua coexistência e efetiva implementação, junto com o PAC, favorecem a aplicação sistemática do APPCC, promovendo a padronização dos processos, a rastreabilidade e a melhoria contínua da segurança dos alimentos (ANVISA, 2022).

2.1 Boas práticas de fabricação (BPF)

Para garantir níveis adequados de segurança alimentar, as BPF são ferramentas essenciais. Essas práticas são obrigatórias pela legislação vigente e fazem parte dos programas destinados a assegurar a qualidade do produto final. As BPF abrangem diversos aspectos, como instalações industriais, pessoal, operações, controle de pragas, controle de matéria-prima, registros e rastreabilidade (Machado; Dutra; Pinto, 2015).

A Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária definiu as BPF como normas e procedimentos para atender a padrões de identidade e qualidade de produtos ou serviços (Brasil, 1993). O Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 1997) exige que os estabelecimentos produtores ou processadores de alimentos mantenham um manual de boas práticas.

É crucial que a agroindústria desenvolva um manual próprio, que descreva todos os procedimentos de controle para cada etapa do processamento. Esse manual deve conter, entre outros aspectos, a descrição da agroindústria, sua localização, os produtos fabricados e as políticas adotadas. O manual de boas práticas aborda ainda os requisitos higiênicos e sanitários para o edifício, a manutenção e higienização das instalações, o treinamento dos funcionários e os produtos e seus métodos de produção (Almeida; Tarrento, 2021).

Embora a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) defina as Boas Práticas de Fabricação (BPF) como um conjunto de medidas simples, pequenos agricultores enfrentam dificuldades significativas para implementá-las em sua rotina. Os principais desafios incluem a precariedade da estrutura física das agroindústrias, etapa fundamental para a manutenção e controle das BPF, e o baixo poder aquisitivo, que limita os investimentos necessários nas etapas básicas do processo.

Esses investimentos incluem, por exemplo, a construção de instalações com materiais específicos, a aquisição de equipamentos adequados para o processamento correto, a disponibilidade de saneamento básico – como esgotamento sanitário – e de produtos específicos de limpeza, além de uniformes, veículos transportadores e uma estrutura projetada para evitar contaminações cruzadas.

Adaptações podem ser realizadas em diferentes escalas de produção, de acordo com a classe de cada indústria. Em propriedades rurais menores, alguns desses requisitos podem ser substituídos por alternativas mais acessíveis, desde que cumpram as funções

exigidas e garantam a qualidade do produto final. Exemplos incluem a construção de compartimentos menores na agroindústria, o uso de materiais mais baratos, a substituição de máquinas automáticas por manuais e a adoção de estruturas e rotinas ecológicas e sustentáveis (Embrapa, 2004).

2.2 Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC)

No Brasil, a implantação do sistema de APPCC teve início em 1993, sob coordenação do Serviço de Inspeção de Pescado e Derivados do então Ministério da Agricultura e Reforma Agrária, atual MAPA (Brasil, 1993). Paralelamente, o Ministério da Saúde estabeleceu normas de caráter obrigatório aplicáveis a todas as indústrias de alimentos, reforçando a adoção de medidas preventivas de controle sanitário. Em 1998, tornou-se obrigatória a aplicação do APPCC em bebidas e vinagres, e foi instituída a implementação gradual do sistema em todas as indústrias de produtos de origem animal, tendo as Boas Práticas de Fabricação (BPF) como pré-requisito essencial (Ribeiro-Furtini; Abreu, 2006).

A APPCC é uma ferramenta preventiva, destinada a monitorar pontos críticos de controle, com o objetivo principal de garantir a qualidade e a segurança do produto final, por meio da análise e da gestão de riscos biológicos, químicos e físicos em processos específicos de todas as etapas da produção, desde a aquisição da matéria-prima até a fabricação, a distribuição e o consumo (Junkerfuerbom; Viapiana; Ferreira, 2020; Vezalli *et al.*, 2022).

Antes da implementação do sistema APPCC, é imprescindível que todos os Procedimentos Operacionais Padronizados (POP) ou PPHO e as BPF, considerados programas de pré-requisitos, estejam plenamente implantados e em funcionamento, garantindo condições higiênico-sanitárias adequadas e a preservação da saúde dos consumidores (Nunes; Cattani; Pedrotti, 2021). A integração desses programas estabelece as bases para uma gestão eficaz da qualidade nas indústrias de alimentos, resultando em maior segurança dos produtos, otimização de processos, redução de custos operacionais, aumento da produtividade e minimização de perdas e desperdícios (Salgado; Alcântara; Carvalho, 2020).

As diretrizes para aplicação do APPCC compreendem etapas como formação da equipe, descrição do produto, determinação do uso pretendido, elaboração do fluxograma local, identificação de pontos críticos de controle (PCC), estabelecimento de limites críticos para cada ponto e ações corretivas (Brasil, 2018a).

2.3 Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) instituiu, em 2002, os Procedimentos Operacionais Padrão (POP), ampliando o controle da higiene em estabelecimentos (ANVISA, 2002). No ano seguinte, o MAPA regulamentou os PPHO para estabelecimentos de leite e derivados sob inspeção federal como um documento formal, o qual deve ser redigido e assinado pela alta administração da empresa e pelo responsável técnico, assumindo o compromisso com a execução e supervisão das atividades planejadas. Sua implementação é indispensável para garantir as BPF em todos os processos. Embora a empresa deva disponibilizar recursos adequados, o comprometimento da gestão, a supervisão rigorosa e a capacitação contínua dos manipuladores são elementos essenciais para a aplicação efetiva dos princípios de higiene e segurança alimentar (Machado; Dutra; Pinto, 2015).

O principal objetivo do PPHO é prevenir a contaminação direta ou cruzada, bem como adulterações nos produtos alimentícios, dando maior confiabilidade nos processos produtivos e segurança alimentar. Para isso, o plano deve abranger ações como: segurança da água, controle de condições e higiene de superfícies de contato com alimentos, prevenção de contaminações cruzadas, práticas de higiene pessoal, proteção contra agentes contaminantes, manejo correto de substâncias químicas, monitoramento da saúde dos trabalhadores, controle integrado de pragas e registro sistemático das atividades executadas (Pereira *et al.*, 2015).

2.4 Programas de Autocontrole (PAC)

Em 2009, o MAPA consolidou os programas de controle de qualidade em um modelo integrado, denominado PAC. Este programa revisou e complementou as abordagens relacionadas ao APPCC, PPHO, BPF e bem-estar animal, estabelecendo um modelo mais amplo de supervisão. O controle do processo produtivo deve ser realizado por meio de análises físico-químicas, microbiológicas, moleculares e histológicas, entre outras, enquanto a conformidade das matérias-primas e dos produtos de origem animal deve ser atestada com métodos e técnicas reconhecidos cientificamente. Os laticínios, desde então, são obrigados a adotar o PAC ou garantir que seus programas preexistentes incorporem os elementos técnicos e de controle descritos na regulamentação (Benedito Júnior *et al.*, 2019; Brasil, 2020).

De acordo com o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017 (Brasil, 2017), os PACs devem incluir os seguintes aspectos: manutenção; água de abastecimento; controle integrado de pragas; higiene industrial e operacional; higiene e hábitos higiênicos dos funcionários; procedimentos sanitários operacionais; controle de matéria-prima; controle de temperatura; análises laboratoriais; controle de formulação de produtos e combate à fraude; rastreabilidade e recolhimento; respaldo para a certificação oficial; bem-estar animal; identificação, remoção, segregação e destinação do material especificado de risco.

3 Método da pesquisa

O experimento foi conduzido em uma propriedade rural localizada na zona fisiográfica de Cabaceiras do Paraguaçu, no Recôncavo Baiano, estado da Bahia. A fazenda, que opera um laticínio e uma granja leiteira com ordenha mecanizada, encontra-se a uma altitude de 210 metros acima do nível do mar, em uma região de clima subúmido a seco, caracterizada por temperatura média de 24,8 °C e pluviosidade anual de 342 mm.

Foram selecionados animais bovinos, fêmeas lactantes da raça Pardo Suíço, de diferentes idades e com condição corporal favorável, utilizados na produção de leite destinado à fabricação de derivados. A fazenda contava com um total de 82 animais, incluindo 26 vacas em lactação, 22 bezerros e 34 novilhas. Para o experimento, foram inicialmente realizados testes para identificar vacas com mastite subclínica. O teste da caneca de fundo preto foi aplicado em todas as vacas em lactação, sendo selecionados 20 animais, com base nos limites operacionais, para os procedimentos subsequentes.

Nas visitas iniciais à propriedade, foi conduzida uma anamnese com o objetivo de compreender a rotina dos animais, abrangendo informações sobre manejo sanitário, alimentação e calendário vacinal. Os protocolos de manejo estavam atualizados e a dieta

alimentar apresentava-se consistente com os parâmetros nutricionais voltados à melhoria do escore corporal (ECC) das vacas, visando o aumento dos índices zootécnicos.

Foram coletados dados sobre não conformidades e identificados pontos críticos, os quais subsidiaram a elaboração de um plano APPCC a ser entregue à fazenda. Adicionalmente, foi realizado o acompanhamento periódico das ordenhas, incluindo inspeções clínicas visuais das glândulas mamárias no momento da aplicação do teste da caneca de fundo preto.

O acompanhamento do teste da caneca de fundo preto ocorreu mensalmente, ao longo de 12 meses, em horários alternados (6h e 14h). Durante o teste, os três primeiros jatos de leite de cada teto foram coletados e observou-se a presença de grumos, pus, sangue ou alterações na coloração, critérios utilizados para a exclusão de vacas que apresentassem tais características.

Após a seleção de 20 vacas com base no teste da caneca de fundo preto, o leite foi coletado e submetido ao teste CMT (*California Mastitis Test*). Este método foi escolhido pela rapidez e praticidade na execução durante a ordenha, além de fornecer uma avaliação imediata da presença de mastite subclínica no rebanho, configurando-se como um teste de triagem rápido e padronizado, realizado conforme as normas do fabricante.

Para a realização do teste, o leite dos quatro quartos mamários de cada vaca foi coletado e depositado individualmente nas quatro cavidades da raquete específica do CMT, até o nível da linha inferior. Em seguida, foram borrifados três jatos da solução reagente de CMT em spray, até atingir o nível da segunda linha. O conteúdo foi homogeneizado com movimentos circulares leves durante 20 segundos, procedendo-se então à leitura.

Na etapa seguinte, foi realizada a CCS presentes no leite de cada vaca, utilizando o kit Somaticell CCS[®], uma ferramenta diagnóstica que permite identificar, de forma rápida e precisa, casos de mastite clínica e subclínica no campo, além de auxiliar no monitoramento da qualidade do leite e da saúde do rebanho. Para isso, foram utilizados materiais descartáveis como pipetas, tubos de análise, tampas com orifício calibrado, hastes para mistura, um frasco de reagente e luvas.

O procedimento consistiu na coleta manual do leite dos quatro tetos de cada vaca antes da ordenha, sendo o material armazenado em tubos para exames laboratoriais. De cada tubo, 2 mL de leite foram retirados com pipeta e transferidos para o tubo do kit de teste. Em seguida, 2 mL do reagente foram adicionados e o conteúdo foi homogeneizado com a haste em 10 movimentos verticais. O tubo foi tampado, invertido para o escoamento do conteúdo por 20 segundos e retornado à posição vertical para leitura. Os resultados da CCS foram obtidos diretamente na escala do tubo, incluindo a aferição do pH do leite, conforme a tabela do kit Somaticell[®]. Este procedimento foi repetido para todas as 20 amostras.

A quantificação de *Staphylococcus aureus* e de aeróbios mesófilos foi realizada por meio do método de contagem rápida Petrifilm[®] (3M Company), com as placas STX (AOAC 2003.07) e AC (AOAC 986.33), respectivamente. As amostras de leite foram diluídas em tubos contendo 9 mL de solução salina de cloreto de sódio a 0,9% esterilizada, e 1 mL foi inoculado em cada placa. As placas foram incubadas a 32 °C por 24 horas, e a contagem de colônias foi realizada manualmente, utilizando o contador Phoenix (CP 608). Os valores obtidos foram comparados com as legislações sanitárias nacionais, incluindo as Instruções Normativas (IN) nº 77 e nº 78 de 2018 do MAPA (Brasil, 2018b; 2018c) e a IN nº 161/2022 da Anvisa (ANVISA, 2022). Quanto maior a quantificação, maior a depreciação da qualidade higiênico-sanitária do produto alimentício.

4 Resultados e discussões

A análise dos dados indicou que o teste da caneca de fundo preto, aplicado em vacas da granja leiteira, mostrou-se eficaz na seleção do grupo experimental de interesse. Esse método permitiu identificar vacas sem sinais visíveis de mastite e diferenciar casos de mastite subclínica e clínica nos primeiros jatos de leite. Verificou-se que, em casos de mastite clínica, depósitos de leucócitos no canal da teta formaram grumos visíveis contra o fundo escuro, enquanto, na mastite subclínica, essa formação não ocorreu, mantendo o leite características visuais semelhantes às de um leite saudável. Esses diagnósticos corroboraram os resultados dos exames clínicos dos animais, permitindo o uso de dois critérios eficientes para a seleção das unidades amostrais.

Foram analisados 80 quartos mamários (20 vacas), cujas amostras de leite não apresentaram formação de grumos durante o teste. Todas as vacas selecionadas (100%) foram negativas para mastite clínica. Adicionalmente, não foram observadas alterações físicas durante a inspeção das glândulas mamárias e tetos, com 100% dos tetos classificados como saudáveis, sem sinais de feridas, edemas ou lesões. Os vieses do estudo foram controlados por rigorosos padrões higiênicos na coleta das amostras e neutralizados, do ponto de vista epidemiológico, mediante testes estatísticos.

Conforme Campos e Túlio (2018), embora o teste da caneca de fundo preto apresente resposta negativa para mastite clínica, pode levantar suspeitas de mastite subclínica. Esse teste também identifica alterações como mudanças de cor, consistência, presença de pus ou sangue, que inviabilizam a comercialização do leite, direcionando-o para descarte.

As primeiras evidências de mastite subclínica foram identificadas por meio do teste da raquete. A CCS, conforme os critérios de Machado, Dutra e Pinto (2015), revelou que 10% das vacas apresentaram resposta negativa, sem formação de gel; 41,3% exibiram traços de gel (-); 37,5% formaram gel moderado (+); 11,3% apresentaram gel forte (++); e nenhuma amostra apresentou gel muito forte (+++).

A análise da CCS revelou que 10% dos tetos apresentaram valores entre 0 e 200.000 células/mL, 41,3% situaram-se entre 200.000 e 400.000 células/mL, 37,5% entre 400.000 e 1.200.000 células/mL, e 11,3% apresentaram valores variando de 1.200.000 a 5.000.000 células/mL. Segundo Kurosawa *et al.* (2020), valores de CCS compreendidos entre 200.000 e 400.000 células/mL são indicativos de mastite subclínica, enquanto contagens superiores a esse intervalo apontam para a progressão da infecção e possível manifestação clínica da doença.

Brito *et al.* (1997) e Lange *et al.* (2017), ao analisarem a especificidade e sensibilidade do teste CMT em relação à CCS, encontraram sensibilidade de 82% para CCS acima de 500.000 células/mL, concluindo que o uso regular do CMT pode melhorar o estado sanitário dos rebanhos. Estudos semelhantes realizados por Silva *et al.* (2001) e Jorge *et al.* (2005) relataram correlações significativas entre CMT e CCS, de 53% e 63%, respectivamente.

Os valores de corte da CCS utilizados para o diagnóstico de mastite bovina variam entre 100.000 e 272.000 células/mL, sendo amplamente aceitos como indicativos da resposta inflamatória intramamária. Contudo, é fundamental considerar que, durante o período pós-parto imediato, a celularidade do leite tende a ser naturalmente elevada, mesmo em quartos mamários não infectados, o que pode comprometer a precisão dos métodos indiretos de avaliação da CCS. Essa condição fisiológica transitória pode reduzir a confiabilidade diagnóstica e dificultar a diferenciação entre alterações inflamatórias normais e infecções intramamárias iniciais, em uma fase caracterizada pela alta suscetibilidade do úbere às mastites (Ferronato *et al.*, 2018).

Ferronato *et al.* (2018) e Rossi *et al.* (2018), em pesquisas comparativas sobre eficiência, sensibilidade e especificidade, destacaram que testes de quantificação de CCS são amplamente utilizados devido à acessibilidade e facilidade de aplicação. Esses autores demonstraram que CCS automática e microscópica, CMT e Somaticell® podem diagnosticar mastite bovina no pós-parto imediato e determinar os quartos mamários para exame bacteriológico. O escore zero do CMT foi considerado o melhor critério diagnóstico em todas as análises realizadas, corroborando os resultados deste estudo.

Outra característica assegurada pelo fabricante do teste é o desempenho comparável à contagem eletrônica realizada em laboratório, alcançando precisão de 97% no diagnóstico de mastite bovina clínica e subclínica. Assim, a contagem de células somáticas das vacas analisadas foi precisa e obtida de forma ágil logo após a aplicação no campo.

O teste de CCS indicou que as amostras analisadas apresentaram média de $1.177,5 \pm 576,62 \times 10^3$ células/mL. As amostras foram classificadas segundo as faixas colorimétricas estabelecidas pelo fabricante, sendo a cor verde para valores de até 200.000 células/mL, amarela para 200.000 a 400.000 células/mL e vermelha para valores acima de 400.000 células/mL. No presente estudo, 5% das vacas foram classificadas na faixa verde, 10% na faixa amarela e 85% na faixa vermelha, sendo esta última considerada crítica, por representar elevada probabilidade de ocorrência de mastite subclínica ou clínica.

Esse resultado é preocupante, pois a elevada porcentagem de animais com probabilidade de mastite subclínica compromete a qualidade do leite e representa um risco significativo à saúde do rebanho. Além disso, esses animais podem atuar como vetores de disseminação de agentes patogênicos, aumentando o risco de contaminação cruzada entre vacas durante a ordenha, especialmente devido à ausência de sinais clínicos visíveis da condição.

Os resultados das análises de pH das amostras obtidas pelo teste Somaticell® indicaram uma média de pH de $7,295 \pm 0,37$, possivelmente correlacionada com a presença de microrganismos. O alto valor nutricional, a elevada atividade de água e o pH do leite são fatores que favorecem a multiplicação de bactérias, bolores e leveduras, conforme apontado por Alkmim (2022). O autor ainda destaca que uma redução no pH está associada ao aumento de bactérias patogênicas, afetando o equilíbrio do leite e levando à sua coagulação.

As análises classificaram os resultados do pH em três faixas, representadas por cores após a reação com o reagente, conforme o guia do fabricante do teste Somaticell®, Laboratório OnFarm: laranja para leite normal, amarelo para leite ácido e vermelho para leite alcalino. Segundo Brito *et al.* (2021), o pH do leite fresco é ligeiramente ácido, variando entre 6,6 e 6,8, com média de 6,7 °C a 20 °C ou 6,6 °C a 25 °C. Contudo, em glândulas mamárias com inflamação (mastite), o pH pode tornar-se alcalino, atingindo valores entre 7,3 e 7,5. No presente estudo, 90% das amostras apresentaram pH alcalino, 0% ácido e apenas 10% com pH ideal.

Esse dado é preocupante, pois demonstra deterioração na qualidade do leite. Sabe-se que alimentos ricos em proteínas, como carne e leite, deterioram-se ao longo do tempo devido à atividade microbiana e bioquímica. Microrganismos decompõem proteínas em aminoácidos, promovendo desaminação oxidativa, descarboxilação e dessulfurização, com produção de gases metabólicos, como aminas voláteis e dióxido de carbono, o que aumenta o pH. Alimentos de baixa acidez (pH > 4,5) são mais suscetíveis à multiplicação microbiana, incluindo espécies patogênicas e deteriorantes. Por outro lado, alimentos ácidos (pH entre 4,0 e 4,4) favorecem o crescimento de leveduras, bolores e algumas bactérias, principalmente lácticas. Em alimentos muito ácidos (pH < 4,0), o

crescimento microbiano restringe-se quase exclusivamente a bolores e leveduras (Fiorda; Siqueira, 2009; Franco; Landgraf, 2005; Oliveira Filho *et al.*, 2025).

A avaliação da carga bacteriana total (contagem de aeróbios mesófilos) revelou uma média de $89.743,50 \pm 120.539,88$ UFC/mL. As Instruções Normativas nº 77 e nº 78 do MAPA (Brasil, 2018b, 2018c) estabelecem limites para a qualidade do leite cru refrigerado, com Contagem Bacteriana Total (CBT) máxima de 300 mil UFC/mL e CCS máxima de 500 mil células/mL (Brasil, 2018a, 2018b).

No presente estudo, apenas 5% das vacas apresentaram CBT superior a 300 mil UFC/mL, enquanto 95% estavam dentro do limite permitido. Em contrapartida, 85% das vacas apresentaram CCS superiores a 400 mil, sugerindo um elevado risco de mastite subclínica, apesar de a CBT estar dentro dos limites legais para a maioria das amostras.

Os resultados quantitativos da contagem de unidades formadoras de colônias de *Staphylococcus aureus* indicaram uma média de $17.686,50 \pm 64.556,75$ UFC/mL. Comparando a contagem total de aeróbios mesófilos com a carga específica de *S. aureus* nas amostras (Tabela 1), constatou-se que todas as amostras apresentaram contaminação pela bactéria. Entretanto, a alta proporção de aeróbios mesófilos em relação a *S. aureus* sugere que os animais estão expostos a uma maior diversidade de microrganismos aeróbios. Resultados semelhantes foram relatados por Marques, Pires e Leães (2020), ao analisarem leite cru de dez produtores rurais no Rio Grande do Sul, com valores variando de $1,78 \times 10^4$ a $4,8 \times 10^6$ UFC/mL, destacando a necessidade de medidas corretivas para adequação às normas e boas práticas de ordenha.

Tabela 1 ►

Comparativo entre a quantificação de aeróbios mesófilos e *Staphylococcus aureus* em amostras de leite de granja leiteira do Recôncavo da Bahia, Brasil, 2023.
Fonte: dados da pesquisa

Amostra	Aeróbios mesófilos	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	5.000	2.600
2	400.000	7.500
3	13.000	3.200
4	300.000	6.700
5	27.000	8.000
6	100	20
7	38.000	100
8	100.000	4.000
9	2.000	1.000
10	100.000	4.000
11	6.000	2.500
12	22.000	1.100
13	130.000	2.000
14	70	10.000.000.000
15	3.000	500
16	30.000	35.000
17	300.000	290.000
18	20.000	500
19	6.000	2.000
20	200.000	1.000

Quadro 1 ▼

Plano APPCC proposto para a granja leiteira do Recôncavo da Bahia, Brasil, 2023.

Fonte: dados da pesquisa

Com base nessas análises, foi elaborado o Quadro 1, seguindo os cinco passos e os sete princípios da APPCC. O quadro apresenta as etapas do processo, os perigos identificados, as justificativas para mudanças e as medidas preventivas ou corretivas. Ressalta-se que o critério “Severidade/riscos” foi classificado como alto em todas as etapas do processo, não sendo incluído detalhadamente.

Etapas de processo	Perigos identificados	Justificativa	Medidas preventivas/corretivas
Paramentação dos ordenhadores	EPIs danificados e incompletos	Fornecimento inadequado de material de trabalho, causando contaminação cruzada	Adquirir novos EPIs completos e realizar treinamento sobre o uso correto dos equipamentos
Lavagem da sala de ordenha	Falta de produtos de limpeza	O não uso de antissépticos no ambiente da ordenha durante a limpeza induz à proliferação de microrganismos no local	Adquirir os produtos específicos necessários e realizar a lavagem duas vezes ao dia, antes das ordenhas
Ligar a bomba da ordenhadeira mecânica para lavar o circuito	Água não tratada	Falta de tratamento com cloro na água utilizada	Utilizar medidas de limpeza para controle e melhoria da qualidade da água, aplicando substâncias nos reservatórios da propriedade, como o cloro, para tratamento da água
Ordenhador vai buscar as vacas no galpão <i>Free-stall</i>	Ausência de pedilúvio	Falta de pedilúvio na entrada da sala de ordenha favorece a contaminação do ambiente por microrganismos trazidos pelos cascos e botas	Instalar pedilúvio em locais estratégicos, como nas entradas de cada seção da granja leiteira, usando produtos desinfetantes para combater possíveis agentes transportados pelos sapatos e cascos
Desinfecção das mãos e lava-botas	Ausência de pia e lava-botas	A não realização das lavagens das mãos e botas em local apropriado também traz riscos de contaminação no ambiente	Instalar lavatórios específicos para mãos e lava-botas na entrada da sala de ordenha
Higienização dos tetos	Incorreta limpeza dos tetos	A falta de limpeza dos tetos antes da ordenha predispõe à mastite e à contaminação de outros animais	Adquirir produtos específicos para a limpeza dos tetos e realizar treinamento para uso correto pelos ordenhadores, seguindo o protocolo do fabricante
Teste da caneca de fundo preto	Falta de testes adicionais de monitoramento da mastite	O teste da caneca de fundo preto detecta apenas a mastite clínica, sendo necessários testes para identificar a mastite subclínica em animais assintomáticos que transmitem a infecção	Desenvolver e executar rotineiramente testes de qualidade do leite para aferir outros parâmetros além da mastite clínica, como pH, análise microbiológica e bioquímica
Pré-dipping	Falta de solução adequada para limpeza dos tetos	O não uso da solução pré-dipping predispõe à contaminação do leite e dos tetos	Adquirir os produtos específicos para essa finalidade e treinar os ordenhadores quanto ao uso correto
Secagem	Contaminação por toalhas	O uso de toalhas reutilizáveis e compartilhadas entre as vacas na ordenha predispõe à disseminação de microrganismos	Adquirir folhas de papel toalha descartáveis
Colocação das teteiras	Higiene das teteiras	A falta de limpeza adequada, conforme o fabricante, pode levar à contaminação do leite por resíduos da máquina	Realizar a limpeza de acordo com o fabricante, utilizando os produtos específicos e respeitando o tempo de ação e os intervalos de cada aplicação

continua

continuação

Descida do leite	Regulagem da ordenhadeira	A desregulagem da máquina de ordenha pode causar traumas nos tetos e impedir a retirada completa do leite, resultando em mastite devido ao excesso de leite	Contratar serviços especializados para realizar manutenções periódicas e revisões da máquina
Limpeza dos equipamentos após a ordenha	Limpeza com antimicrobianos e cloro	A limpeza inadequada leva à proliferação bacteriana na máquina, contaminando o leite e os tetos nas ordenhas subsequentes	Adquirir os produtos específicos para essa finalidade e treinar os ordenhadores para usar
<i>Pós-dipping</i>	Mastite por mau uso do produto	A aplicação incorreta da solução antisséptica, sem cobrir totalmente o teto, reduz a eficácia da desinfecção e favorece infecções intramamárias	Adquirir os produtos específicos para essa finalidade e treinar os ordenhadores para usar
Lavagem do tanque	Higienização com cloro e produtos de limpeza	Lavagem inadequada, deixando resíduos e colocando em risco a qualidade do leite por contaminação	Revisões periódicas do aquecimento de água garantindo a esterilização do circuito da máquina e do tanque, adquirir os produtos específicos para essa finalidade e treinar os ordenhadores para usar
Lavagem da sala da ordenha	Limpeza com desinfetantes	A presença de contaminantes na sala de ordenha pode contaminar os animais e o ambiente devido à ineficiência da limpeza	Adquirir produtos específicos para limpeza e realizar treinamento de uso com os ordenhadores

5 Conclusão

O Plano de APPCC é um documento exigido por legislação e amplamente reconhecido como uma ferramenta essencial para a gestão da qualidade do leite na indústria, com foco preventivo. Trata-se de uma abordagem sistemática que busca identificar pontos críticos relacionados a riscos biológicos, químicos e físicos nas diversas etapas de produção de alimentos, permitindo a implementação de medidas corretivas para mitigação dos riscos identificados.

Nesse contexto, após a aplicação dos testes e a análise da frequência de mastite, conclui-se que a propriedade estudada necessitava da implementação de um plano de APPCC. Assim, o plano foi elaborado e apresentado, visando garantir a produção segura do leite, melhorar sua qualidade e atender às exigências legais e sanitárias.

A observância dos critérios estabelecidos no plano de APPCC agrega valor aos produtos comercializados. No entanto, a construção e implantação do plano exigem investimentos e mudanças de hábitos que, muitas vezes, não são viáveis para pequenas propriedades rurais, devido à escassez de recursos financeiros e à falta de assistência técnica especializada.

Em longo prazo, a adoção do plano pode trazer benefícios significativos, como o aumento da quantidade de leite destinado ao laticínio, devido à redução do descarte de leite impróprio para consumo. Além disso, pode-se observar uma diminuição nos índices de mastite e nos problemas relacionados às glândulas mamárias dos animais, redução no uso de medicamentos como antibióticos, maior frequência de diagnósticos bacterianos e

melhorias na qualidade do leite. Tais avanços podem resultar na transição do selo SISBI para o SIF, viabilizando a comercialização em território nacional.

Como sugestões para pesquisas futuras e aprimoramentos no plano de APPCC, propõe-se a incorporação de uma abordagem integrada com a sustentabilidade, promovendo a redução de resíduos no processo produtivo e mitigando impactos ambientais. Dentro das medidas de controle, é relevante investigar como as ações corretivas afetam o consumo de recursos naturais. Outra possibilidade é realizar pesquisas colaborativas e engajadas com indústrias, consumidores, reguladores e produtores de diferentes setores, a fim de identificar lacunas invisíveis à análise técnica e compartilhar melhores práticas. Por fim, sugere-se o monitoramento contínuo de perigos emergentes associados às mudanças climáticas, como a proliferação de patógenos em novas áreas e o surgimento de novos produtos químicos provenientes de alterações na cadeia produtiva, que devem ser identificados e controlados.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) pelo apoio financeiro, bem como à fazenda que gentilmente cedeu o espaço e os animais necessários para a realização deste estudo.

Financiamento

Este estudo foi conduzido por um discente de mestrado, com bolsa da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), sendo os custos adicionais suportados com recursos próprios.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver qualquer conflito de interesses relacionado a este estudo.

Nota

A dissertação em que este trabalho se baseou está disponível no link: <https://ri.ufrb.edu.br/jspui/handle/123456789/3906>.

Contribuições ao artigo

FONSECA, T. S.; BARROS, L. S. S.: concepção ou desenho do estudo/pesquisa; análise e/ou interpretação dos dados; revisão final com participação crítica e intelectual no manuscrito. **CAVALCANTE, A. K. S.:** revisão final com participação crítica e intelectual no manuscrito. **SILVA, I. M. M.:** análise e/ou interpretação dos dados; revisão final com participação crítica e intelectual no manuscrito. Todos os autores participaram da escrita, discussão, leitura e aprovação da versão final do artigo.

Referências

ALKMIM, L. D. **Análise de perigos à saúde e à qualidade presentes na matéria-prima leite**. 2022. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Goiânia, 2022. Disponível em: <https://repositorio.pucgoias.edu.br/jspui/handle/123456789/4938>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ALMEIDA, J. M. P.; TARRENTO, G. E. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção de UHT, e a ferramenta APPCC. In: JORNADA CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA DA FATEC, 10., 2021, Botucatu. **Anais [...]**. Botucatu: Fatec Botucatu, 2021. Disponível em: <http://www.jornacitec.fatecbt.edu.br/index.php/XJTC/XJTC/paper/view/2515>. Acesso em: 20 nov. 2024.

ANDREEVA, A. A.; EVGRAFOVA, V. A.; VORONINA, M. S.; PRUNTOVA, O. V.; SHADROVA, N. B. Etiology and epizootology of bovine mastitis (analytical review). **Veterinary Science Today**, v. 13, n. 1, p. 27-35, 2024. DOI: <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-1-27-35>.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, ano 155, n. 126, p. 235-238, 6 jul. 2022. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-161-de-1-de-julho-de-2022-413366880>. Acesso em: 26 nov. 2024.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 275, de 21 de outubro de 2002**. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Brasília, DF: ANVISA, 2002. Disponível em: https://www.gov.br/servidor/pt-br/siass/centrais_conteudo/manuais/resolucao-rdc-anvisa-n-275-de-21-de-outubro-de-2002.pdf/view. Acesso em: 20 nov. 2024.

ARAGÃO, B. B.; TRAJANO, S. C.; SILVA, J. G.; OLIVEIRA, J. M. B.; SANTOS, A. S.; MELO, R. P. B.; PEIXOTO, R. M.; MOTA, R. A. Avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* em queijo coalho artesanal elaborado com leite de cabra produzido no estado de Pernambuco. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 2, p. 615-622, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10723>.

BARROS, L. S. S.; SANTOS, J. K.; SILVA, A. S. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and antimicrobial susceptibility test in milk and cheese from hadman farm dairies. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 7, n. 6, p. 765-774, 2018. DOI: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.706.089>.

BATISTA, A. S.; BARROS, L. S. S.; SANTOS, E. S. V.; SILVA, M. H. *Escherichia coli* O157: H7 em leite produzido no Brasil. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 2, p. 87-111, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20140023>.

BENEDITO JÚNIOR, H. S.; TEODORO, V. A. M.; VICENTINI, N. M.; SILVA, M. R.; COSTA, R. G. B.; MIGUEL, E. M.; SOBRAL, D.; PAULA, J. C. J. Verificação do

nível de atendimento aos programas de autocontrole em indústrias de laticínios de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 73-85, jun. 2019. DOI: <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v74i2.714>.

BRASIL. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017**. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF: Presidência da República, 2017. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2015-2018/2017/decreto/d9013.htm. Acesso em: 7 out. 2025.

BRASIL. **Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020**. Altera o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, que regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre o regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Brasília, DF: Presidência da República, 2020. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2020/decreto/d10468.htm. Acesso em: 2 dez. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2018. Estabelece como oficiais os métodos constantes do Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 155, n. 134, p. 9, 13 jul. 2018a. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/lfd/legislacao-metodos-da-rede-lfda/poa/in3013_07_2018poa.pdf. Acesso em: 26 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018**. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Pecuária, 2018b. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/plano-de-qualificacao-de-fornecedores-de-leite/arquivos-do-pqfl/IN772018QualificodefornecedoresdeleiteatualizadapelaIN5919.pdf>. Acesso em: 26 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Instrução Normativa nº 78, de 26 de novembro de 2018. Estabelece requisitos e procedimentos para o registro de provas zootécnicas visando o controle leiteiro e avaliação genética de animais com aptidão leiteira. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ano 155, n. 230, p. 13, 30 de nov. 2018c. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-78-de-26-de-novembro-de-2018-52753040>. Acesso em: 26 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. **Portaria nº 368, de 4 de setembro de 1997**. Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênicas-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1997. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/Portaria_368.1997.pdf/view. Acesso em: 20 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Secretaria de Defesa Agropecuária. **Perguntas e respostas**: Decreto nº 9.013, de 2017. RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Versão 5, de 23 de fevereiro de 2022. Brasília, DF: Ministério da Agricultura e Pecuária, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos->

[animal/arquivos-publicacoes-dipoa/perguntas-e-respostas-decreto-9-013-de-2017-regulamento-de-inspecao-industrial-e-sanitaria-de-produtos-de-origem-animal](#). Acesso em: 20 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 1.428, de 26 novembro 1993**. Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 1993. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1993/prtl1428_26_11_1993.html. Acesso em: 20 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil**: Informe 2024. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/situacao-epidemiologica/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024.pdf>. Acesso em: 10 out. 2025.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997. Disponível em: https://www.pvb.com.br/portal/download_artigo/MTR8MjAyNDExMjkwOTAwMTI=. Acesso em: 29 nov. 2024.

BRITO, M. A.; BRITO, J. R.; ARCURI, E. F.; LANGE, C. C.; SILVA, M. R.; SOUZA, G. N. **pH do Leite**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2021. Disponível em: https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/gado_de leite/pre-producao/qualidade-e-seguranca/qualidade/testes-de-qualidade/ph-do-leite. Acesso em: 29 nov. 2024.

CAMPOS, J. A. C.; TÚLIO, L. M. Utilização dos testes da caneca de fundo preto telada e California Mastitis Test (CMT) para identificação de mastite em fêmeas bovinas. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária**, v. 1, n. 2, p. 124-137, 2018. Disponível em: <https://ojsrevistas.fag.edu.br/index.php/ABMVFAG/article/view/289>. Acesso em: 20 nov. 2024.

CARACUSCHANSKI, F. D.; SANTANA, R. M.; BRASSOLATTI, L. C.; ALVES, T. C.; SANTOS, M. V.; ZAFALON, L. F. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em leite de vacas com mastite subclínica. In: CONGRESSO DE SEGURANÇA E QUALIDADE DOS ALIMENTOS, 1., 2022, Campinas. **Anais [...]**. Campinas: Unicamp, 2022. p. 1-6. Disponível em: <https://publicacoes.softaliza.com.br/csqa/article/view/3442>. Acesso em: 20 nov. 2024.

CASTRO, R. D. **Fatores de patogenicidade, perfil de resistência a antimicrobianos e diversidade clonal de Staphylococcus aureus isolados de leite cru, soro fermentado, manipuladores e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes, Brasil**. 2019. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/handle/1843/34848>. Acesso em: 8 nov. 2024.

DEUS, T. B.; BARROS, L. S. S.; SILVA, R. M.; LIMA, W. K. S.; LIMA, D. V.; SILVA, A. S. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in curd cheese sold in the Northeastern region of South America. **International Journal of Microbiology**, v. 2017, p. 1-6, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/8173741>.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de boas práticas agropecuárias e sistema APPCC**. Brasília, DF: EMBRAPA/SEDE, 2004. 123 p. (Série Qualidade e Segurança dos Alimentos). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/111887/1/agropecuaria1.pdf>. Acesso em: 2 dez. 2024.

FERREIRA, E. M.; ROMERO, L. C.; CUNHA, M. L. R. S.; MALAGÓ JUNIOR, W.; CAMARGO, C. H.; BARIONI JÚNIOR, W.; ZAFALON, L. F. Persistence of *Staphylococcus* spp. in milk from cows undergoing homeopathy to control subclinical mastitis. **BMC Veterinary Research**, v. 18, 273, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03364-8>.

FERRONATTO, J. A.; FERRONATTO, T. C.; SCHNEIDER, M.; PESSOA, L. F.; BLAGITZ, M. G.; HEINEMANN, M. B.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.; SOUZA, F. N. Diagnosing mastitis in early lactation: use of Somaticell®, California mastitis test and somatic cell count. **Italian Journal of Animal Science**, v. 17, n. 3, p. 723-729, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1426394>.

FIORDA, F. A.; SIQUEIRA, M. I. D. Avaliação do pH e atividade de água em produtos cárneos. **Estudos – Revista de Ciências Ambientais e Saúde (EVS)**, Goiânia, v. 36, n. 4, p. 817-826, maio/jun. 2009. Disponível em: <https://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/1132>. Acesso em: 29 nov. 2024.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

HOSSAIN, M. K.; PAUL, S.; HOSSAIN, M. M.; ISLAM, M. R.; ALAM, M. G. S. Bovine mastitis and its therapeutic strategy doing antibiotic sensitivity test. **Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry**, v. 4, n. 1, 1030, 2017. DOI: <https://doi.org/10.26420/AUSTINJVTSCIANIMHUSB.2017.1030>.

JORGE, A. M.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, M. R. B.; CORREA, R. C.; KASBURGO, D. G.; PICCININ, A.; VICTÓRIA, C.; DOMINGUES, P. F. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS) do leite de búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 2039-2045, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-35982005000600029>.

JUNKERFUEBOM, F. D.; VIAPIANA, C.; FERREIRA, F. A. B. Desenvolvimento do plano APPCC para linha de produção de queijo mussarela. In: VERRUCK, S. (org.). **Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos**: v. 1. Rio de Janeiro: Científica Digital, 2020. p. 158-168. DOI: <http://dx.doi.org/10.37885/201001834>.

KIVARIA, F. M.; NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; NIELEN, M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 78, n. 3-4, p. 274-285, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.10.011>.

KUROSAWA, L. S.; CÉZAR, L. M. L.; MARQUES, F. A.; ORIANI, M. R. G.; MORAES, M. E. Perfil de susceptibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus* spp. associados a mastite bovina. **Pubvet**, v. 14, n. 5, a563, 2020. DOI: <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n5a563.1-6>.

LANGE, M. J.; ZAMBOM, M. A.; POZZA, M. S. S.; SIMÕES, G. H.; FERNANDES, T.; TININI, R. C. R.; FORNARI, J.; ANSCHAU, F. A. Tipologia de manejo de ordenha: análise de fatores de risco para a mastite subclínica. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1205-1212, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017001100004>.

LEITE, D. P. S. B. M. **Identificação e perfil de resistência fenotípico e genotípico de Staphylococcus aureus isolados de médicos veterinários, tutores, animais e ambiente hospitalar na cidade do Recife, Brasil**. 2022. 94 f. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2022. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/8729>. Acesso em: 8 nov. 2024.

MACHADO, R. L. P.; DUTRA, A. S.; PINTO, M. S. V. **Boas práticas de fabricação (BPF)**. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2015. (Série Documentos CTAA). Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1028270>. Acesso em: 20 nov. 2024.

MARQUES, T. M.; PIRES, P. R.; LEÃES, F. L. Avaliação da qualidade de leite cru refrigerado de produtores assistidos pela EMATER/RS no município de São Luiz Gonzaga (RS). **Revista Principia**, João Pessoa, n. 52, p. 117-128, nov. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.18265/1517-0306a2020v1n52p117-128>.

NUNES, A. S.; CATTANI, C. S. O.; PEDROTTI, F. **Procedimento para implantação do sistema APPCC em indústrias de produtos de origem animal**. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2021. 46 p. Disponível em: <https://pt.scribd.com/document/576643060/Procedimento-para-implantacao-do-sistema-APPCC>. Acesso em: 29 nov. 2024.

OLIVEIRA, M. I. **Efeito de extratos de folhas de yacon e nisina sobre a viabilidade de Staphylococcus aureus in vitro e em leite**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de São Carlos, Buri, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/handle/ufscar/17807>. Acesso em: 7 nov. 2024.

OLIVEIRA FILHO, J. G.; SOUZA, B. B.; ROBLES, J. R.; AZEREDO, H. M. C.; TONON, R. V.; ABIADÉ, J.; MATTOSO, L. H. C.; YARIN, A. L. Fast production of highly sensitive nanotextured nonwovens for detection of volatile amines, bacterial growth, and pH monitoring: new tools for real-time food quality monitoring. **Food Chemistry**, v. 464, part 3, 141896, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141896>.

PEREIRA, G. E.; PRATES, M. V. M.; SILVA, G. A.; BIASOTO, A. C. T.; GUERRA, C. C. Boas práticas de elaboração e PPHO. In: SILVEIRA, S. V.; GARRIDO, L. R.; HOFFMAN, A. (ed.). **Produção integrada de uva para processamento: processos de elaboração de sucos e vinhos, BPA e APPCC**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. v. 5, cap. 3, p. 24-38. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1060297>. Acesso em: 20 nov. 2024.

PEREIRA, M. L.; PEREIRA, J. L.; SERRANO, A. M.; BERGDOLL, M. S. Estafilococos e alimentos: possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 66-67, p. 48-55, 1999.

POLL, P. S. E. M. **Genotipificação de Staphylococcus aureus isolados de queijo minas frescal e leite de bovinos com mastite subclínica**. 2020. Tese (Doutorado

em Saúde Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2020. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/39053>. Acesso em: 20 nov. 2024.

RADU, E.; DIMA, A.; DOBROTA, E. M.; BADEA, A-M.; MADSEN, D. Ø.; DOBRIN, C.; STANCIU, S. Global trends and research hotspots on HACCP and modern quality management systems in the food industry. **Heliyon**, v. 9, n. 7, e18232, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18232>.

RIBEIRO-FURTINI, L. L.; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-70542006000200025>.

ROCHA, Á. O. B.; RAMOS, C. G. S.; CLARINDO, J. G.; ARAUJO, M. S. Diagnóstico da utilização do sistema APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) em uma indústria de leite e derivados. **Brazilian Journal of Production Engineering**, v. 4, n. 2, p. 135-159, 2018. Disponível em: https://periodicos.ufes.br/bjpe/article/view/v4n2_9. Acessado em: 10 out. 2025.

RODRIGUES, M. J.; BARROS, L. S. S.; BARRETO, N. S. E.; LIMA, D. V. *Escherichia coli* O157 in curd cheese. **African Journal of Agricultural Research**, v. 11, n. 5, p. 407-415, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10353>.

ROSSI, R. S.; AMARANTE, A. F.; CORREIA, L. B. N.; GUERRA, S. T.; NOBREGA, D. B.; LATOSINSKI, G. S.; ROSSI, B. F.; RALL, V. L. M.; PANTOJA, J. C. F. Diagnostic accuracy of Somaticell, California Mastitis Test, and microbiological examination of composite milk to detect *Streptococcus agalactiae* intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 11, p. 10220-10229, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14753>.

SALGADO, T. M. V.; ALCÂNTARA, L. O.; CARVALHO, M. S. M. APPCC: uma ferramenta da gestão da segurança de alimentos. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 1, n. 7, p. 90-107, 2020. Disponível em: <https://revistascientificas.ifrj.edu.br/index.php/alimentos/article/view/1636>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SALOTTI, B. M.; CARVALHO, A. C. F. B.; AMARAL, L. A.; VIDAL-MARTINS, A. M. C.; CORTEZ, A. L. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 171-175, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v73p1712006>.

SANTOS, J. K.; BARROS, L. S. S.; MEDEIROS, E. S.; SILVA, T. M. S.; SOARES, K. D. A.; SILVA, A. E. Caracterização fenotípica de biofilme e resistência antimicrobiana de estafilococos coagulase positiva presentes em leite pasteurizado sob inspeção estadual. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 12, n. 2, p. 190-197, 2018. Disponível em: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieneanimal/article/view/442>. Acesso em: 28 nov. 2024.

SANTOS, K. E. O.; BARROS, L. S. S. Scrutiny of microorganisms in fermented milk beverage and water from dairy under state inspection. **Food and Nutrition Sciences**, v. 12, n. 11, p. 1008-1019, 2021. DOI: <https://doi.org/10.4236/fns.2021.1211074>.

SANTOS, P. R.; GONZALEZ, H. L.; LADEIRA, S. R. L.; DORS, G. C.; NASCENTE, P. S. Bactérias da mastite subclínica bovina: suscetibilidade a antibióticos. In: CONGRESSO

INTERNACIONAL DA AGROINDÚSTRIA (CIAGRO 2020), 1., 2020, Evento online. **Anais [...]**. Recife: Instituto Internacional Despertando Vocações, 2020. p. 108-121. DOI: <http://dx.doi.org/10.31692/ICIAGRO.2020.0425>.

SHAHEEN, M.; TANTARY, H. A.; NABI, S. U. A treatise on bovine mastitis: disease and disease economics, etiological basis, risk factors, impact on human health, therapeutic management, prevention and control strategy. **Advances in Dairy Research**, v. 4, n. 1, e1000150, 2016. Disponível em: <https://www.longdom.org/open-access-pdfs/a-treatise-on-bovine-mastitis-disease-and-disease-economics-etiologicalbasis-risk-factors-impact-on-human-health-therapeutic-manag-2329-888X-1000150.pdf>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SILVA, D. G. B.; SILVA, H. B.; SILVA, A. M.; CRUZ JÚNIOR, M. R. C.; LEITE, J. C. S.; TEIXEIRA, C. V. P.; FIRMO, W. C. A. Infecções cutâneas ocasionados por *Staphylococcus aureus*: uma revisão sistemática. In: FIRMO, W. C. A.; SILVA, M. R. C.; FURTADO, H. L. A.; SANTOS, D. C. P.; CORREA, R. F. R.; NUNES, M. A. S. (org.). **Ciências em revisões**. Rio de Janeiro: e-Publicar, 2023. p. 41-54. Disponível em: <https://editorapublicar.com.br/ojs/index.php/publicacoes/article/view/4>. Acesso em: 20 nov. 2024.

SILVA, E. R.; ARAÚJO, A. M.; ALVES, F. S. F.; PINHEIRO, R. R.; SAUKAS, T. N. Associação entre o *California Mastitis Test* e a contagem de células somáticas na avaliação da saúde da glândula mamária caprina. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Sciences**, v. 38, n. 1, p. 46-48, 2001. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/5920>. Acesso em: 29 nov. 2024.

VEZALLI, L. P.; OLIVEIRA, C. R. A.; POPOLIM, W. D.; REZENDE, A. J.; FORTES, R. C.; CORREIA, A. F. K. Elaboração do plano APPCC (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle) na produção do queijo minas artesanal da Serra da Canastra – MG. **Journal of the Health Sciences Institute**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 17-23, 2022. Disponível em: <https://repositorio.unip.br/journal-of-the-health-sciences-institute-revista-do-instituto-de-ciencias-da-saude/elaboracao-do-plano-appcc-analise-de-perigos-e-pontos-criticos-de-controle-na-producao-do-queijo-minas-artesanal-da-serra-da-canastra-mg/>. Acesso em: 20 nov. 2024.

VILAR, M. J.; RODRÍGUEZ-OTERO, J. L.; SANJUÁN, M. L.; DIÉGUEZ, F. J.; VARELA, M.; YUS, E. Implementation of HACCP to control the influence of milking equipment and cooling tank on the milk quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 23, n. 1, p. 4-12, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.002>.

YOUSSEF, N. H.; HAFIZ, N. M.; HALAWA, M. A.; SAAD, M. F. Association of selected risk factors with bovine subclinical mastitis. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 15, n. 2, p. 153-160, 2021. DOI: <https://doi.org/10.21708/avb.2021.15.2.9785>.

ZAFALON, L. F.; MINHO, A. P.; GASPARELLO, E. B.; SILVA, R. W. S. M.; DOMINGUES, R.; CARACUSCHANSKI, F. D.; ALVES, T. C.; BARIONI JÚNIOR, W. Evaluation of homeopathic protocols for the treatment of subclinical mastitis in lactating cows. **International Journal of High Dilution Research**, v. 22, p. 105-114, 2022. DOI: <https://doi.org/10.51910/ijhdr.v22icf.1278>.