LESLIE AVILA DO BRASIL ALMEIDA

**Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite
bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus***

São Paulo
2004

LESLIE AVILA DO BRASIL ALMEIDA

**Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite
bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Nilson Roberti Benites

São Paulo
2004

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1421 FMVZ	<p>Almeida, Leslie Avila do Brasil</p> <p>Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com <i>Staphylococcus aureus</i> / Leslie Avila do Brasil Almeida. - São Paulo : L. A. B. Almeida, 2004.</p> <p>104 f. : il.</p> <p>Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2004.</p> <p>Programa de Pós-graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.</p> <p>Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Nilson Roberti Benites.</p> <p>1. Homeopatia veterinária. 2. Inoculação (experimentos). 3. Mastite animal. 4. Agricultura orgânica. Título.</p>
----------------	--

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Investigação da eficácia do uso de medicamentos homeopáticos no tratamento de mastite de vacas inoculadas com *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e verificação de surgimento de possíveis portadores são pós-tratamento", Protocolo nº 177/2002, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Nilson Roberti Benites, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sendo aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Investigation of the efficacy of the homeopathic medicine in dairy cows with mastitis induced by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* and verification the possibles helth carrier after the treatment" protocol number 177/2002, under the responsability of Prof.Dr. Nilson Roberti Benites, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commision of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum" meeting.)

São Paulo, 05 de setembro de 2002

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome do autor: ALMEIDA, Leslie Avila do Brasil

Título: Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Ao meu amado filho Ossamu pela força e coragem que me inspira e por todos os momentos que deixamos de conviver para que eu pudesse ir atrás de meus sonhos.

Aos meus pais Feliciano e Norma pelo imenso amor que sempre me deram e por acreditarem incondicionalmente em meus ideais.

A minhas irmãs e demais familiares que são minha melhor torcida.

A todos os amigos e companheiros que dividiram comigo momentos de alegrias e tristezas ao longo desta caminhada.

A todos os homeopatas que amam verdadeiramente a homeopatia e desejam que ela seja entendida e praticada assim como Hahnemann o fez.

A todas as pessoas que desejam viver e deixar para as futuras gerações um planeta Terra mais limpo, que se dedicam a divulgar e encontrar meios de fazer com que a agropecuária orgânica cresça e se expanda cada vez mais.

Aos animais, esses seres tão puros que dividem conosco a jornada da vida e aos quais devemos todo nosso respeito e dedicação.

AGRADECIMENTOS

Mais uma fase de minha vida está se encerrando, mas outras portas serão abertas com novos desafios e novas conquistas que me levarão por caminhos que serão compartilhados com antigos companheiros de jornada e com novos amigos que se juntarão, com os quais sorrirei e chorarei. É essa cumplicidade que nos engrandece e nos faz perceber que nada é por acaso e nossa existência é muito preciosa.

Através da oportunidade de realizar este curso de mestrado pude conviver com pessoas que antes desconhecia, que agora ocupam um lugar especial em meu coração e que estarão comigo por toda a existência. Desde pesquisadores com vastos conhecimentos, até humildes trabalhadores que contribuíram cada qual de seu jeito, para que eu me tornasse uma pessoa melhor do que quando comecei este trabalho.

Agradeço imensamente ao Professor Nilson Roberti Benites por que, muito mais que um orientador, é um mestre e um amigo que sempre dividiu seus conhecimentos e experiências de maneira a engrandecer-me profissional e pessoalmente.

Uma profunda gratidão aos pesquisadores Maria Aparecida Vasconcelos Paiva e Brito, José Renaldi Feitosa Brito, Luiz Januário Magalhães Aroeira e Maria de Fátima Ávila Pires da Embrapa Gado de Leite, pela oportunidade de desenvolver este trabalho com todo o apoio material e humano.

Aos funcionários do Campo Experimental de Coronel Pacheco, Armando José Ribeiro dos Santos, Sebastião Carlos de Oliveira Coutinho, Miguel Fernando Basílio, José Geraldo Pinto da Silva, Sebastião Carlos Gonçalves e Francisco Guilherme da Silva que colaboraram diretamente na execução da etapa experimental deste trabalho, sempre com muita dedicação e carinho.

Um agradecimento muito especial ao funcionário Klinger Aparecido de Souza, que disponibilizou totalmente o Laboratório de Sanidade Animal e os equipamentos para que eu pudesse trabalhar adequadamente, estando sempre por perto para que tudo corresse da melhor maneira possível, além de ser um grande incentivador de todo o trabalho.

Agradeço muito a paciência e dedicação de Pedra Margareth Pires e Elza Maria Faquim, bibliotecárias da Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice – FMVZ/USP, que muito me auxiliaram na revisão deste trabalho.

A todos aqueles que de alguma maneira me ajudaram e não estou citando individualmente.

Aos animais, essas criaturas tão especiais, que me ensinam tanto sobre coragem, resignação, afeto, compaixão e são o elemento catalisador para conhecer as pessoas que fazem parte de minha vida.

Com certeza estou levando muito de cada um de todos e espero ter deixado o melhor de mim.

***“Se as leis da medicina que eu conheço e proclamo
são certas e naturais, elas devem poder ser aplicadas
nos animais tão bem como no homem”.***

Samuel Hahnemann

***“Qualquer coisa que você saiba fazer ou pensa que
saiba, comece!***

***A ousadia guarda em si o gênio, o poder e a magia da
realização.***

Tente!”.

RESUMO

ALMEIDA, L. A. B. **Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus***. [Evaluation of allopathic and homeopathic treatments of bovine mastitis in inoculated animals with *Staphylococcus aureus*]. 2004. 104 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

A mastite bovina é considerada a doença que causa os maiores prejuízos à produção leiteira, reduzindo em quantidade e qualidade o leite e os derivados lácteos. Especialmente na mastite clínica, ocorre aumento no risco de resíduos de antimicrobianos no leite, portanto além do prejuízo diretamente relacionado ao processo inflamatório, acrescenta-se o custo com medicamentos, aumento do labor da mão-de-obra e tempo de descarte do leite após tratamento, até a total eliminação os resíduos de antibióticos utilizados. A expansão dos sistemas de produção pecuária orgânica aumenta a necessidade de utilizar métodos diferentes daqueles conhecidos convencionalmente. A homeopatia é uma terapêutica que tem sido cada vez mais utilizada em animais de produção com resultados bastante satisfatórios. No Brasil a produção orgânica é regulamentada pela Lei Nº10.831 de 23 de dezembro de 2003 e lá há orientação para o uso de medicamentos homeopáticos, assim como fitoterapia e acupuntura na terapêutica animal, em lugar dos medicamentos convencionais, que têm seu uso muito restrito e em certos casos proibido. Para realização deste trabalho foi feita uma inoculação intramamária experimental com estirpes de *Staphylococcus aureus* em 36 quartos mamários de 18 vacas mestiças de Holandesas e Gir pertencentes ao Campo Experimental de Coronel Pacheco/MG da Embrapa/CNPGL, com o objetivo de comparar o tratamento de animais acometidos com a utilização de medicamentos homeopáticos (*Phytolacca decandra* 6CH, *Calcarea carbonica* 6CH e *Silicea terra* 6CH) e com antibiótico (Cefoperazone Sódico), usando como parâmetros para este estudo: os sinais clínicos, a prova de CMT, as contagens de células somáticas, tanto eletrônicas quanto ópticas e culturas microbiológicas, além da

avaliação do custo dos dois tratamentos. No presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa quanto à intensidade do processo inflamatório avaliados pelo CMT e contagens de células somáticas, quanto ao número de unidades formadoras de colônias isoladas do leite das glândulas mamárias inoculadas e entre período de convalescença dos dois tratamentos. O custo de aquisição dos medicamentos para o tratamento de mastite aguda utilizando homeopatia foi muito inferior ao mesmo tratamento realizado com antibiótico intramamário.

Palavras-chave: Homeopatia veterinária. Inoculação (experimentos). Mastite animal. Agricultura orgânica.

ABSTRACT

ALMEIDA, L. A. B. **Evaluation of allopathic and homeopathic treatments of bovine mastitis in inoculated animals with *Staphylococcus aureus*** [Avaliação do tratamento alopático e homeopático de mastite bovina em animais inoculados com *Staphylococcus aureus*.]. 2004. 104 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

The bovine mastitis is considered the illness that causes most losses in milk production, reducing the quantity and quality of milk and dairy products. Especially in clinical mastitis there is an increase on the risk of antimicrobials in milk. Therefore, beyond the losses directly related with the inflammatory process, there is also the expense with drugs, an increase in the animal handling and a discard of milk after the antibiotics treatment, up until the totally elimination of the drug residues. The expansion of organic animal production systems increases the necessity of using different methods of those already conventionally known. Homeopathy is a therapeutically method that has been more used in livestock with satisfactory results. In Brazil, organic production is regulated by the law number 10.831 of December 23rd of 2003, where there is an orientation for using homeopathic medicines as well as phytotherapy and acupuncture in animal health instead of conventional medicines which are restricted in many cases and sometimes even forbidden. In order to develop this research it was done an experimentally intramammary inoculation with a strain of *Staphylococcus aureus* in 36 mammary gland quarters of 18 cows cross-bred with Holstein and Gir from the Experimental Fields of Coronel Pacheco/MG of Embrapa/CNPGL. The purpose was to compare the treatment of the inoculated animals with homeopathy (*Phytolacca decandra* 6CH, *Calcarea carbonica* 6CH and *Silicea terra* 6CH) and antibiotic (Sodic Cefoperazone). The parameter used for this study were clinical signs, CMT, counting of somatic cells electronically in as much as using the optical method and microbiological cultures. It was also estimated the costs of both treatments. At the present study there was no statistical

difference in intensity of the inflammatory process evaluated by the CMT and somatic cell counts, by the number of CFU isolated from milk of the inoculated mammary glands and between the times of convalescence in both treatments. The cost of acquisition of medicines for the treatment of acute mastitis using homeopathy was very lower when compared with the same treatment done with intramammary antibiotics.

Key words: Experimental inoculation. Veterinary homeopathy. Animal mastitis. Organic agriculture.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AD	Anterior direito
Br	Bromo
cm ²	Centímetro Cúbico
C	Carbono
CCS	Contagem de Células Somáticas
CCSE	Contagem de Células Somáticas Eletrônica
CCSO	Contagem de Células Somáticas Óptica
CH	Centesimal Hahnemanniana
CMT	California Mastitis Test
CNPGL	Centro Nacional de Pesquisa em Gado de Leite
Cr	Cromo
d	Dia
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FIL	Federação Internacional de Lácteos
h	Hora
H	Hidrogênio
HE	Coloração de Hematoxilina e Eosina
K	Potássio
mg	Miligrama
ml	mililitro
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MN	Mononucleares

N	Nitrogênio
O	Oxigênio
ONGs	Organizações Não Governamentais
PD	Posterior direito
PMN	Polimorfonucleares
R\$	Reais
UFC	Unidade Formadora de Colônia
US\$	Dólares Americanos
USP	Universidade de São Paulo

LISTA DE SÍMBOLOS

Nº	Número
%	Porcentagem
/	Divisão
>	Maior que
+	Positivo
µL	Microlitro
X	Multiplicação
°C	Graus Centígrados
<	Menor que

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	OBJETIVO	24
3	REVISÃO DE LITERATURA	26
3.1	AGRICULTURA ORGÂNICA	26
3.2	MASTITE	28
3.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	30
3.2.2	Métodos de Diagnóstico	31
3.2.2.1	Avaliação Clínica da Glândula Mamária e Secreção Láctea	32
3.2.2.2	Contagem de Células Somáticas (CCS)	32
3.2.2.2.1	<i>CCS Indireta</i>	33
3.2.2.2.2	<i>CCS Direta</i>	33
3.2.2.2.2.1	<i>CCS Óptica (CCSO)</i>	34
3.2.2.2.2.2	<i>CCS Eletrônica (CCSE)</i>	35
3.2.2.3	Avaliação Microbiológica	35
3.2.3	Métodos de Tratamento	36
3.2.3.1	Antimicrobianos	36
3.2.3.2	Medicamentos Homeopáticos	37
3.3	SAÚDE PÚBLICA	40
4	MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1	AVALIAÇÃO CLÍNICA DAS GLÂNDULAS MAMÁRIAS	46
4.2	CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS	47
4.2.1	California Mastitis Test (CMT)	47

4.2.2	Contagem Eletrônica de Células Somáticas (CCSE)	48
4.2.3	Contagem Óptica de Células Somáticas (CCSO)	49
4.3	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS	50
4.4	GRUPOS EXPERIMENTAIS	51
4.4.1	Grupo Tratado com Antibiótico	51
4.4.2	Grupo Controle	51
4.4.3	Grupo Tratado com Medicamentos Homeopáticos	52
4.4.3.1	Escolha do Medicamento Homeopático	53
4.4.3.1.1	<i>Repertorização</i>	53
4.4.3.1.2	<i>Matéria Médica</i>	54
4.5	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	54
5	RESULTADOS	57
5.1	CONTAGEM DE CÉLULAS	57
5.2	MICROBIOLÓGICO	60
6	DISCUSSÃO	63
7	CONCLUSÃO	76
	REFERÊNCIAS	78
	APÊNDICES	88

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A mastite (do grego *mastos*) ou mamite (do latim *mammae*) bovina é considerada a doença que causa os maiores prejuízos à produção leiteira, reduzindo em quantidade e qualidade o leite e os derivados lácteos (SANTOS, 2003). Além disso, a mastite clínica, principalmente, aumenta o risco de resíduos de antimicrobianos no leite, portanto além do prejuízo diretamente relacionado ao processo inflamatório, acrescenta-se o custo com medicamentos, aumento do labor da mão-de-obra e tempo de descarte do leite após tratamento, até a total eliminação os resíduos de antibióticos utilizados (COSTA et al., 1999a). A maioria das mamites apresenta-se sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes e, apesar do aspecto inofensivo, causam sérios prejuízos econômicos e servem de fonte de infecção (COSTA, 1998).

O processo inflamatório da glândula mamária que deve ser diagnosticado pelo exame clínico desta (inspeção, palpação), complementado pelo exame do leite no qual se avaliam principalmente suas características macroscópicas através das provas de caneca-de-fundo-escuro ou Tamis, sua celularidade indireta através do *Califórnia Mastitis Test* ou CMT, bem como da avaliação da celularidade direta através das contagens de células somáticas ou CCS, utilizando-se um contador eletrônico ou em microscopia óptica, e finalmente, verifica-se o seu perfil microbiológico, através do cultivo do leite oriundo das glândulas mamárias acometidas (GRUNERT, 1993).

O controle da mastite bovina e a cura dos animais infectados constituem um dos maiores problemas enfrentados pela pecuária leiteira (DEGRAVES; FETROW, 1993) e é a principal causa para o tratamento de vacas em lactação com antimicrobianos trazendo riscos ao consumidor (COELHO, 2003; COSTA, 1996).

A presença destes resíduos representa um problema de saúde pública por poder desencadear reações alérgicas em indivíduos sensíveis e, por participar da seleção de bactérias resistentes a esses produtos. É também um problema econômico, pois interfere nos processos industriais de produção e conservação de derivados do leite (COSTA, 2002).

O crescimento do mercado consumidor que está preocupado com resíduos em alimentos além da expansão dos sistemas de produção pecuária orgânica, aumenta a necessidade de utilizar métodos diferentes daqueles conhecidos convencionalmente. (FONSECA, 2001; MITIDIERO, 2002)

Naturalmente essas novas abordagens devem cumprir o papel de atuar eficazmente nas diferentes patologias e serem economicamente viáveis.

A homeopatia é uma terapêutica que tem sido cada vez mais utilizada em animais de produção com resultados bastante satisfatórios.

Atualmente a produção de alimentos orgânicos tem crescido substancialmente em todo o mundo e é regulamentada por legislações específicas. No Brasil a produção orgânica foi regulamentada inicialmente pela Instrução Normativa do MAPA, N°007 de 17 de Maio de 1999 (BRASIL, 1999) e posteriormente ratificada pela Lei N°10.831 de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003). A citada legislação obriga o uso de medicamentos homeopáticos, assim como fitoterapia e acupuntura na terapêutica animal, em lugar dos medicamentos convencionais, que têm seu uso muito restrito e em certos casos proibido.

A Embrapa Gado de Leite sediou um workshop para discussão do tema produção orgânica de leite. Discutiram-se o estado da arte da pecuária orgânica de leite no Brasil, as experiências de produção e as potencialidades do mercado com este tipo de produto, e definiu-se que as principais demandas de pesquisa estão ligadas às áreas de Manejo e Alimentação, Sanidade do Rebanho, Qualidade do Leite e Sócio-economia (VILELA, 2001).

Nos aspecto sanitário, especialmente em relação à produção de leite, foi solicitado desenvolver testes sobre a eficiência de produtos homeopáticos na prevenção e tratamento de mastites.

Para realização deste trabalho foi feita uma inoculação intramamária experimental com cepas de *Staphylococcus aureus*. Esta bactéria foi escolhida para o experimento por ser uma causa importante de mastites clínicas e infecções intramamárias em rebanhos bem manejados (SCHUKKEN et al., 1994), sendo ainda um importante agente dessas afecções em bovinos nas regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste do Brasil (BRITO; BRITO, 1998), tendo a capacidade de produzir grande variedade de toxinas extracelulares e fatores de virulência que estão relacionados à sua patogenicidade, além de oferecer grande resistência diversos antimicrobianos existentes, o que o torna um problema de saúde pública uma vez que podem ser veiculados pelos alimentos (CARDOSO; CARMO; SILVA, 2000; COSTA, 1991; COSTA et al., 2000; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

OBJETIVO

2 OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo comparar o tratamento de animais acometidos com mastite infecciosa aguda por *Staphylococcus aureus* através de infecção experimental, com a utilização de medicamentos homeopáticos e com antibióticos.

Usando como parâmetros para este estudo: os sinais clínicos, a prova de CMT, as contagens de células somáticas , tanto eletrônicas quanto ópticas e culturas microbiológicas.

Outro objetivo deste trabalho foi avaliar o custo de tratamento da mastite infecciosa aguda, comparando o uso de antibiótico intramamário e de medicamentos homeopáticos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão realizada para este trabalho está dividida em sub-itens como demonstrado a seguir.

3.1 AGRICULTURA ORGÂNICA

Ao longo do século XX disseminou-se pelo mundo o uso de produtos químicos na agricultura e na pecuária. Através da alimentação, resíduos desses produtos chegaram ao organismo humano, com repercussões negativas sobre a nossa saúde. Essa situação despertou em muitos profissionais, e na sociedade como um todo, a urgência de se criar animais e de cultivar a terra de maneira mais sadia para o homem, e também para os animais e o solo. Neste momento, há uma massa crítica considerável que promove um interesse crescente a nível mundial para integrar uma lógica ecológica à produção agropecuária, em fazer ajustes nos sistemas produtivos de modo a torná-los ambiental, social e economicamente viáveis e compatíveis. Em consequência disto, a agropecuária ecológica ganhou força, considerando as inúmeras vantagens sanitárias e econômicas decorrentes desse modo de produção de alimentos. No Brasil, a discussão técnica sobre essa alternativa se deu de maneira isolada, no interior de cada profissão (SIMPÓSIO, 2000).

A necessidade de se mudar os paradigmas de desenvolvimento foram evidenciados no evento RIO-92 (Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento), na qual ficou reconhecida a importância de se caminhar para a sustentabilidade no desenvolvimento das nações, a partir do comprometimento com a Agenda 21 (STRENGTHENING, 2004).

A agricultura orgânica vem nos últimos anos ganhando força em todo mundo devido a crescente preocupação com as questões ambientais (erosão do solo, contaminação das águas

superficiais e subterrâneas), com as questões sociais (êxodo rural, inchaço das cidades, aumento da violência, etc.) e a procura por alimentos livres da contaminação por agentes químicos sintéticos. Segundo pesquisas realizadas em várias partes do mundo, a busca da qualidade alimentar está se tornando uma das principais preocupações dos consumidores conscientes que passam a procurar mais os alimentos orgânicos. A agricultura orgânica visa o equilíbrio da propriedade como um todo, sem excluir as pessoas envolvidas no processo, sejam elas os proprietários ou os trabalhadores. Este equilíbrio permite uma maior sustentabilidade do sistema, pois o organismo agrícola (propriedade) passa a ter um maior poder de recuperação contra possíveis adversidades, evitando assim sua degradação e uma oferta de alimentos comprovadamente mais saudáveis. O Brasil possui, segundo dados do BNDES (ORMOND et al., 2002) 270 mil hectares sob manejo orgânico ou em conversão com uma área de 353 milhões de hectares destinados à agricultura, correspondendo assim a 0,08% de área orgânica em relação à área total agricultável demonstrando um imenso potencial nesse setor. Aproximadamente 85% da produção orgânica nacional é exportada, podendo-se destacar os seguintes produtos: açúcar, café, cacau, a soja, a castanha de caju, o óleo de dendê, o mel, entre outros. Dentro deste cenário, onde o Brasil demonstra um imenso potencial, é importante que o governo juntamente com as ONGs do setor, as universidades, as entidades certificadoras e a comunidade em geral, faça a sua parte para que a agricultura orgânica deixe de ser simplesmente uma promessa e se transforme em uma realidade, contribuindo assim para um desenvolvimento sustentável, respeitando as relações do homem com a natureza, pois parafraseando Hipócrates, “As doenças atacam as pessoas e a sociedade não como um raio em céu azul, mas são conseqüências de contínuos erros contra a natureza”. (DAROLT, 2003).

De acordo com a Instrução Normativa do MAPA Nº 007, de 17 de maio de 1999, que regulamenta e dispõe sobre a produção orgânica, estabelecendo as normas de produção,

tipificação, processamento, envase, distribuição e de certificação da qualidade para os produtos orgânicos de origem vegetal e animal, ratificada pela Lei 10.831 do MAPA, de 23 de Dezembro de 2003 que dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências, estão descritas em seu Anexo IV as normas para a produção animal, com as práticas permitidas e as proibidas e, conforme o item 1 desse anexo, a homeopatia é uma das condutas terapêuticas desejadas e recomendadas nos controle sanitário do rebanho, enquanto que a utilização de antibióticos e esteróides, que são os medicamentos empregados no tratamento convencional de mamites, estão classificados no item 3 como técnicas proibidas (ALMEIDA, 2001; BRASIL, 1999; BRASIL, 2003).

Contudo, é preciso observar que um sistema orgânico de produção não é obtido somente na troca de insumos químicos por insumos orgânicos/biológicos/ecológicos. A legislação brasileira estabelece uma série de procedimentos para que o leite de uma propriedade seja considerado orgânico. Estes procedimentos regulamentam a alimentação do rebanho, instalações e manejo, escolha de animais, sanidade e até o processamento e empacotamento do leite (BRASIL, 1999; BRASIL, 2003).

No que diz respeito à sanidade do rebanho são proibidos aditivos, promotores de crescimento, estimulante de apetite, medicamentos convencionais, etc. Para preservar a saúde dos bovinos, as recomendações são de que sejam utilizados os tratamentos homeopáticos. Os produtores devem, ainda estar atentos para os produtos usados na lavagem e desinfecção dos utensílios usados na produção (ALMEIDA, 2000).

3.2 MASTITE

A mastite bovina é uma afecção da glândula mamária, de grande importância na bovinocultura leiteira mundial, por afetar a produção leiteira em quantidade e qualidade.

Muitos estudos têm sido realizados para avaliar os prejuízos econômicos causados por esta patologia tanto para a indústria leiteira como para o consumidor final (BLOOD; RADOSTITIS, 1989; COSTA et al., 1995; COSTA, 1998; DOBBINS, 1977; LANGONI et al., 1998; SANTOS, 2003). Em vista disto, a produção de leite em boas condições higiênicas deve ser uma das principais metas de todos os segmentos profissionais que atuam na pecuária leiteira, visando proporcionar um alimento de alto valor nutritivo, reduzindo o risco de se veicular agentes nocivos à saúde do consumidor (ARAÚJO, 1994).

A mastite pode ocorrer como consequência de alterações fisiológicas e/ou metabólicas, traumas, alergias ou, como ocorre mais frequentemente, associada à ação de microrganismos (infecciosa), sendo esta última a mais importante sob os pontos de vista econômico e de saúde pública (COSTA, 1991). De acordo com as diferentes causas e graus de intensidade, será a duração e as consequências do processo inflamatório da glândula mamária (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Os principais agentes etiológicos de mastite foram convencionalmente classificados quanto à sua origem e modo de transmissão em dois grupos: microrganismos contagiosos ou transmissíveis, transmitidos principalmente durante a ordenha, sendo denominados “vacas-dependentes”, presentes no corpo do animal com ou sem mastite; e os chamados microrganismos ambientais, ubiquitários, presentes no ar, água, cama e fezes. O *Staphylococcus aureus* está incluído no primeiro grupo (COSTA, 1998; REBHUN, 2000).

Normalmente a mastite tem início como consequência da penetração de microrganismos através do canal do teto em direção ao interior da glândula mamária. Se o ambiente interno for favorável ao estabelecimento e multiplicação dos agentes invasores, os produtos oriundos do crescimento bacteriano e de seu metabolismo ocasionam uma resposta inflamatória, a qual constitui uma expressão da defesa da glândula com o objetivo de destruir

o invasor, permitir a reparação do tecido e seu retorno ao funcionamento normal (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Fatores que predispõem à mastite incluem principalmente a falta de higiene, problemas de manejo, funcionamento inadequado de ordenhadeiras bem como técnicas de ordenha deficientes (DU PREEZ; GIESECKE, 1994).

O diagnóstico é realizado pelo exame da glândula mamária através de inspeção e palpação, complementado pelo exame do leite no qual se avaliam principalmente suas características macroscópicas pelo teste de Tamis ou prova do caneco-de-fundo-escuro, sua celularidade indireta pelo *Califórnia Mastitis Test* (CMT), celularidade direta através da contagem de células somáticas (CCS) e seu perfil microbiológico (GRUNERT, 1993).

3.2.1 *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* possui as seguintes características: são cocos Gram positivos, coagulase positivos, β -hemolíticos, maltose e manitol positivos e formadores de colônias pigmentadas (JAY, 1994). Sua importância epidemiológica para o homem, está na capacidade que várias estirpes têm de produzir nos alimentos contaminados, toxinas causadoras de gastroenterites (ZECCONI; HAHN, 2000). Estas possuem elevada resistência térmica, portanto, não são inativadas pelos métodos térmicos tradicionais de tratamento do leite, como a pasteurização (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; SILVA et al., 2001).

Destaca-se como o microrganismo de grande importância na incidência de mastite infecciosa nos rebanhos leiteiros mundiais, e em função de sua elevada resistência aos antibióticos, seu tratamento torna-se difícil. (ZECCONI; HAHN, 2000).

O *Staphylococcus aureus* junto com o *Streptococcus uberis* foram identificados como os principais agentes causadores de mastites em 40 propriedades leiteiras orgânicas na região de Vermont/EUA (BARLOW, 2001).

De acordo com estudos de Brabes et al. (1999) a prevalência deste agente infeccioso em cinco propriedades leiteiras dos estados de São Paulo e Minas Gerais, foi de 40,15%. Neste mesmo estudo foram identificadas 16 estirpes produtoras de enterotoxinas, indicando um risco potencial à saúde humana associado ao consumo deste alimento contaminado.

Em um estudo realizado por Costa et al. (2000) nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo o gênero *Corynebacterium* foi o de maior prevalência na etiologia da mastite bovina, seguido do gênero *Staphylococcus*, sendo que os *Staphylococcus* coagulase-positivos predominavam com uma porcentagem de 65,5%.

Em outro trabalho avaliando o agente etiológico com a ocorrência de mastites clínica e subclínica, Costa et al. (2001) encontraram que a maior prevalência de mastites clínicas ocorreu quando o agente envolvido era o *Staphylococcus aureus* e nas subclínicas o agente de maior prevalência foi o *Corynebacterium*.

Benites et al (2001) estudando a ocorrência de mastites espontâneas em 140 glândulas mamárias de 35 vacas, encontraram um predomínio de isolamento de microrganismos do gênero *Staphylococcus* (60,71%), sendo que 54,29% correspondiam a *Staphylococcus* coagulase-negativos e 6,43% *Staphylococcus* coagulase-positivos.

3.2.2 Métodos de Diagnóstico

O diagnóstico da mastite é importante, pois auxilia nas medidas necessárias para controlar o quadro infeccioso instalado, podendo ser feito por diversos métodos descritos a seguir.

3.2.2.1 Avaliação Clínica da Glândula Mamária e Secreção Láctea

O exame clínico inicia com a inspeção visual da glândula mamária, principalmente observando-se o tamanho do úbere, diferenças de tamanho entre os quartos mamários, localização, formato e coloração. Além dessas avaliações, também se devem observar as características macroscópicas do leite para detecção de anormalidades como a presença de grumos, coágulos, pus, sangue, alterações na coloração normal do leite. O exame do leite pode ser feito através da prova de Tamis (caneca telada) ou caneca-de-fundo-escuro, utilizando-se o leite dos primeiros jatos da ordenha (BIRGEL, 1982; BLOOD; RADOSTITS, 1989; BRAMLEY, 1992; DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 1993).

A palpação da glândula mamária segue-se após a ordenha, para detecção de sensibilidade e alterações no parênquima mamário tais como presença de nódulos, grânulos, endurecimentos difusos e edema. A palpação do canal do teto, bem como da parede e cisterna do mesmo e cisterna da glândula, revela a presença de algum aumento de volume, com ou sem aumento de temperatura, assim como a presença de lesões, fibrose e fístulas (BLOOD; RADOSTITS, 1989; DIRKSEN; GRÜNDER; STÖBER, 1993; SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

3.2.2.2 Contagem de Células Somáticas (CCS)

A quantificação de células somáticas tem como objetivo a detecção de anormalidades no leite como consequência de mastites ou outras causas, permitindo a padronização da qualidade do leite, auxiliando ainda nas pesquisas sobre mastite. Podem-se utilizar métodos diretos de contagem através de microscopia óptica ou contadores eletrônicos, ou por métodos

indiretos como o CMT (California Mastitis Test) (CULLEN, 1966; LANGONI, 2000; SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

3.2.2.2.1 CCS Indireta

O CMT é capaz de detectar a ocorrência de mastite subclínica pelo aumento de células somáticas, principalmente polimorfos nucleares (PMN) por mililitros de leite. De cada glândula mamária colhe-se uma amostra de 2,0 ml de leite, à qual são adicionados na mesma proporção, um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsificar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com conseqüente liberação de material nucléico, sendo que o DNA liberado produz uma viscosidade que caracteriza esta reação. A gelificação da mistura descrita acima, proporcional à quantidade de células presentes, e classificada em distintos escores, conforme às intensidades do processo inflamatório (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994; THIERS et al., 1999).

3.2.2.2.2 CCS Direta

A reação inflamatória determina um aumento da quantidade de leucócitos na glândula mamária acometida. Estas células de defesa migram para o úbere, quando este sofre alguma agressão, como por exemplo, no caso de uma infecção que provoca a liberação de substâncias químicas devido à ação dos agentes patogênicos e da destruição de tecido secretor, o que induz a passagem de células brancas do sangue para o interior da glândula. Logo, a CCS serve para detectar o aumento de leucócitos no leite (COSTA et al., 1999b; RIBAS, 1996).

A CCS direta no leite tem sido aceita como uma das ferramentas mais importantes na determinação da presença e intensidade do processo inflamatório da glândula mamária. A

quantidade e os tipos celulares presentes variam sob condições fisiológicas e patológicas (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Numa glândula infectada, as células de defesa correspondem de 98 a 99% da células encontradas no leite de acordo com Philpot e Nickerson (1991). Segundo Ribas (1996) esse número está entre 75% e 98% do total da CCS, pelos estudos de Paape et al. (1979) na glândula mamária infectada predominam principalmente os neutrófilos ou polimorfonucleares (PMN) e segundo Schalm, Carroll e Jain (1971) o número de polimorfonucleares nos quadros de mastite ficam entre 80% e 90%. Os linfócitos perfazem de 20 a 40% do total de células e o restante corresponde a macrófagos e células secretoras descamadas (DANIEL et al., 1991).

As contagens elevadas de polimorfonucleares indicam a presença de uma inflamação aguda, por outro lado contagens baixas como, por exemplo, 40% podem indicar uma lesão crônica (BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

3.2.2.2.1 CCS Óptica (CCSO)

Este método tem importância pela capacidade de diferenciar e quantificar a presença de polimorfonucleares e mononucleares presentes na secreção láctea e não na determinação do número absoluto das mesmas (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Essa metodologia ainda é mais acessível, serve para calibrar os equipamentos de contagem eletrônica, no entanto, deve ser realizada por um profissional especializado (SCHALM; CARROLL; JAIN, 1971).

Prescott e Breed (1910) desenvolveram um método para determinar o número de células no leite, utilizando-se esfregaços de leite fixados e corados em lâminas e avaliados por microscopia óptica comum.

Benites, Melville e Costa (2001) modificaram a técnica de coloração de Prescott e Breed (1910), empregando a coloração de hematoxilina e eosina, para melhor visualização das células.

3.2.2.2.2 CCS Eletrônica (CCSE)

A contagem eletrônica de células somáticas no leite é uma forma moderna de diagnóstico de mastite aceita internacionalmente como critério de avaliação da sanidade da glândula mamária da vaca e conseqüentemente qualidade do leite, individualmente por ela produzido ou pelo rebanho, através do exame do tanque de expansão.

Este método é realizado com o auxílio de aparelhos, como por exemplo o Somacount-300 (Bentley Instruments. Inc.) (LANGONI, 2000).

3.2.2.3 Avaliação Microbiológica

O exame microbiológico de amostras de leite coletadas assepticamente é considerado o método padrão para determinação da saúde do úbere e para o diagnóstico da mastite bovina, de modo que medidas de controle possam ser implementadas com maior eficiência. (BRITO et al., 2000; RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994). Com esse objetivo, procedimentos padronizados são conhecidos e adotados em diversos países do mundo, destacando-se os publicados pela Federação Internacional de Laticínios e Conselho Nacional de Mastite (HARMON; EBERHART; JASPER, 1990)

A avaliação microbiológica é de grande importância, especialmente quando os resultados de CMT têm escore negativo e no entanto ocorre isolamento de agentes como

Staphylococcus aureus e *Streptococcus agalactiae*, uma vez que esses animais podem ter um importante papel como fonte de infecção para o rebanho (BRITO et al., 1999)

De acordo com o Anexo II do Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo B, o número máximo é de 5×10^5 UFC/ml (BRASIL, 2002).

3.2.3 Métodos de Tratamento

Um programa efetivo de controle da mastite deve basear-se principalmente nas medidas de prevenção. Mas é importante a utilização da terapia, com o objetivo de auxiliar as defesas específicas e inespecíficas do animal na eliminação do microrganismo invasor (COSTA, 2002).

O tratamento medicamentoso ideal da mastite seria aquele que pudesse controlar todos os processos infecciosos do úbere e não deixasse resíduos no leite (COSTA, 2002).

3.2.3.1 Antimicrobianos

A descoberta e o amplo uso dos agentes antimicrobianos tiveram um reconhecimento e um impacto profundo sobre a vida e a saúde dos seres humanos e animais. A terapia com antibióticos está em uso no manejo da saúde animais de produção há mais de 40 anos. (FRANCO; WEBB; TAYLOR, 1990)

Os casos de mastite clínica são tratados normalmente com antibióticos, com um índice satisfatório de cura (>90%). No entanto a eliminação de infecções estafilocócicas é mais rara (BRAMLEY, 1992).

As vias de administração dos antimicrobianos empregados no gado leiteiro para o tratamento das mastites podem ser por via intramamária ou sistêmica. O número de dias em

que um animal deve ser submetido ao tratamento de mastite clínica com antimicrobianos não deverá ultrapassar cinco dias, uma vez que no intervalo de 3-5 dias ocorrem os maiores índices de sucesso, além de haver um menor período de descarte do leite (COSTA et al., 1999b).

A terapia visa auxiliar as defesas do hospedeiro eliminando os patógenos, porém, para algumas infecções, o sucesso terapêutico pode ser medido melhor pela redução dos sintomas clínicos da mastite do que pela eliminação total do patógeno (COSTA, 2002; ERSKINE et al., 1993).

Cabe ressaltar que a terapêutica com antibióticos não pode ser utilizada em produções orgânicas certificadas (ALMEIDA, 2000; BRASIL, 2003)

3.2.3.2 Medicamentos Homeopáticos

Nas propriedades certificadas para produção orgânica são proibidos medicamentos convencionais tanto para prevenção como para tratamento sanitário dos animais. Para essa finalidade as recomendações são de que sejam utilizados os tratamentos homeopáticos e/ou fitoterápicos (ALMEIDA, 2000).

Foi Hipócrates (460-350 A.C.) quem primeiro descreveu a *Lei dos Semelhantes* através do aforismo: *Similia Similibus Curantur* ou seja “O Semelhante cura o semelhante” (BENITES, 1999).

Somente no século XVIII, Hahnemann (1755-1843) conseguiu aplicar a “Lei dos Semelhantes”, através de amplos e exaustivos estudos que publicou em sua obra: “O Organon da Arte de Curar” e “Doenças Crônicas”. Ele provocava intoxicações experimentais com medicamentos homeopáticos em indivíduos sadios e observava os sintomas apresentados pelos mesmos. Posteriormente, ele utilizava estes mesmos medicamentos para o tratamento de

doenças cujos sintomas clínicos se assemelhavam àqueles observados nas experimentações. Assim, a o medicamento homeopático utilizado em cada caso clínico era escolhido quando o quadro sintomatológico que provocava em indivíduos sãos era semelhante àquele apresentado pelo indivíduo doente (BENITES, 2000).

Foi o próprio Hahnemann quem iniciou o uso de medicamentos homeopáticos em animais. Posteriormente Böenninghausen, que era advogado, botânico e discípulo de Hahnemann, realizou muitos tratamentos individuais em animais. O primeiro médico veterinário homeopata de quem se tem notícia, teria sido Joseph Wilhem Lux (1776-1848), que introduziu tratamentos homeopáticos em animais por volta de 1823 (BENITES, 1999).

A doutrina homeopática difundida por Hahnemann em sua obra *Exposição da Doutrina Homeopática ou Organon da Arte de Curar* (HAHNEMANN, 1995), segue os seguintes princípios:

- Estímulo vital contra a doença pela reação vital (curativa) a um medicamento capaz de produzir no indivíduo sadio uma doença (artificial) “semelhante”.
- Experimento das substâncias medicamentosas para determinar seus efeitos no organismo.
- Experimento de medicamentos somente em indivíduos sãos, para evitar o aparecimento de sintomatologia não produzida pelo medicamento.
- Registro cuidadoso das doenças artificiais, doenças estas produzidas por instalações deficientes, alimentação inadequada e hábitos indesejáveis.
- Retratação do caso, não somente com o propósito de diagnóstico, como também para a obtenção de sintomas próprios do paciente e suas reações anormais.
- Seleção do remédio por cuidadosa comparação entre o complexo sintomático característico do paciente e do medicamento, até que se descubra aquele que provoca os sintomas mais semelhantes aos da doença em questão.

- Administração de um medicamento de cada vez, pois não existe experimentação de associações de medicamentos e, portanto, não se conhecem destas associações, se há efeitos aditivos, antagônicos, etc.

Para tratar os animais com medicamentos homeopáticos é necessário (DAY, 1992) :

- Conhecer os medicamentos através do estudo das Matérias Médicas Puras, onde estão minuciosamente descritos os resultados das experimentações realizadas por Hahnemann e seus colaboradores.
- Conhecer a afecção e examinar bem o paciente para poder escolher os sinais característicos e importantes que serão usados na escolha do medicamento mais adequado.
- Selecionar o medicamento estudado na experimentação que mais se assemelhe ao quadro de doença natural. Para essa tarefa além do cumprimento das etapas anteriores, utiliza-se o auxílio do Repertório. Este se trata de um livro que cataloga os sintomas por capítulos e classifica os medicamentos que cobrem as rubricas selecionadas para cada caso.
- Remoção dos obstáculos à cura, que na pecuária moderna podem ser considerados com tais: o mal manejo, instalações e nutrição inadequadas, raças mal adaptadas ao meio, etc.

Além dos medicamentos obtidos diretamente dos três reinos da natureza e de outras fontes, a Homeopatia compreende igualmente outros medicamentos denominados bioterápicos, também chamados de isoterápicos ou nosódios feitos a partir de secreções, tecidos, parasitas ou mesmo microrganismos (ALMEIDA, 2001).

Em um estudo feito na Irlanda por Egan (1998), verificou-se que de 234 propriedades leiteiras analisadas, 22,2% (52) utilizavam bioterápicos para controle de mastite clínica e destes 43,8% (21) informaram ter obtido sucesso no tratamento.

Já Krutzinna, Boehncke e Herrmann (1996), estudando a produção de leite orgânico em 268 fazendas na Alemanha, observaram que a mastite era a afecção de maior incidência (56%) e 27% das propriedades empregam homeopatia nos tratamentos de saúde dos animais.

Estudando a terapia de mastite em fazendas orgânicas de leite no Reino Unido, Hovi e Roderick (2000) observaram que a homeopatia era utilizada para controle de mastite em 49,8% das propriedades.

Searcy, Reyes e Guajardo (1995) estudando mastite sub-clínica empregaram um complexo homeopático composto de *Phytolacca decandra* 200CH, *Phosphorus* 200CH e *Conium maculatum* 200CH.

Em um estudo conduzido em 10 propriedades leiteiras da região de Vermont/EUA por Barlow et al. (2001), foi empregado um nosódio a partir de leite contaminado com alguns microrganismos comumente presentes em casos de mastites : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella*.

3.3 SAÚDE PÚBLICA

A qualidade do leite tem destacada importância sob o ponto de vista de saúde pública, uma vez que, são freqüentes os casos de doenças associadas ao consumo de leite ou derivados lácteos contaminados com microrganismos patogênicos (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

No caso das contaminações microbianas dos alimentos devido ao *Staphylococcus aureus*, o risco à saúde pública está na característica que ele possui de produzir toxinas

extracelulares e fatores de virulência que causam sérios transtornos aos consumidores, que vão desde leves toxinfecções alimentares até um choque letal (CARDOSO; CARMO; SILVA, 2000).

Por outro lado, a preocupação com a saúde pública também ocorre por parte das indústrias e consumidores, quanto a persistência de resíduos de antibióticos no leite, decorrentes dos tratamentos com antibióticos, intramamários ou sistêmicos, para combate e prevenção de mastites (COSTA et al., 1999a; RAIA et al., 1999).

A presença desses resíduos no leite de consumo representa riscos à saúde do consumidor, contribuem para a seleção de microrganismos patogênicos resistentes e interferem na produção de derivados, inviabilizando muitas vezes a produção destes e, conseqüentemente, causando também sérios prejuízos à indústria láctea (COSTA, 2002; COSTA et al., 1999b).

Estudos recentes evidenciam a persistência de antibióticos após o período estabelecido pelos fabricantes dessas drogas, não só nos quartos tratados por via intramamária, como também nos quartos não tratados adjacentes aos mesmos (COELHO, 2003; COSTA et al., 1999b).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram estudados os processos inflamatórios induzidos em 36 quartos mamários de 18 vacas mestiças de Holandesas e Gir pertencentes ao Campo Experimental de Coronel Pacheco/MG da Embrapa CNPGL, em instalações adaptadas e apropriadas ao manuseio de microrganismos patogênicos. Inicialmente os animais selecionados eram comprovadamente livres de infecção por *Staphylococcus aureus* na glândula mamária.

A infecção experimental foi realizada inoculando-se em dois quartos mamários laterais direitos de cada vaca 10 ml de uma suspensão contendo 10.000UFC (Unidades Formadoras de Colônias) de *Staphylococcus aureus* isolada de animal com mastite clínica e disponível na coleção de cultura do Laboratório de Microbiologia da Embrapa Gado de Leite, com a finalidade de provocar uma mastite clínica aguda (Figuras 1, 2 e 6).

Diariamente, durante 23 dias, foram realizados em todos os quartos os testes de Tamis ou caneca-de-fundo-preto (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994) e CMT - *California Mastitis Test* (SCHALM; NOORLANDER, 1957). No mesmo período foram feitas 7 coletas para contagem de células somáticas (CCS) e culturas microbiológicas (Figuras 3, 4 e 5).

As amostras foram colhidas após higienização dos úberes com água corrente e posterior secagem com papel-toalha descartável individual para cada quarto mamário. Em seguida, procedia-se a anti-sepsia dos tetos com uma solução de álcool iodado a 10%.

Foram coletados, de cada quarto mamário, aproximadamente 10ml de leite em frascos estéreis para análise microbiológica e 20ml em frascos contendo o conservante dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$), para avaliação de células somáticas. As amostras foram transportadas sob refrigeração até o laboratório, sendo processadas no menor tempo possível.

Figura 1 - Preparo do material para inoculação experimental de *Staphylococcus aureus*

Figura 2 - Inoculação experimental intramamária com *Staphylococcus aureus* nos quartos laterais direitos anterior e posterior

Figura 3 - Coleta de amostras de leite para CCS e cultura microbiológica

Figura 4 - Preparo de material para coleta de amostras de leite a serem enviadas ao laboratório para elaboração de CCS e cultura microbiológica.

O experimento teve a duração de 23 dias consecutivos, sendo o dia 08/07/2003 considerado o dia 0 (zero), quando foi feita a inoculação e o dia 30/07/2003, como o último dia de tratamento.

4.1 AVALIAÇÃO CLÍNICA DAS GLÂNDULAS MAMÁRIAS

Os úberes foram inspecionados através de palpação e observação visual, considerando-se alterações de coloração, temperatura, presença de edema e consistência do parênquima mamário.

Após o exame físico da glândula mamária, a secreção láctea de cada teto foi submetida à prova do Tamis ou caneca-de-fundo-preto (BLOOD; RADOSTITIS, 1989), observando-se a cor, consistência da secreção e a presença de massas ou grumos a fim de detectar a ocorrência de mastite clínica.

Figura 5 - Teste da caneca-de-fundo-preto com presença de grumo

Figura 6 - Rubor e edema em quarto mamário posterior direito após inoculação experimental intramamária com *Staphylococcus aureus*

4.2 CONTAGENS DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Foram realizados três métodos de avaliação de CCS: O CMT como teste indireto e as Contagens Eletrônica e Óptica como testes diretos.

4.2.1 California Mastitis Test (CMT)

De cada glândula mamária colheu-se uma amostra de 2,0 ml de leite, à qual foram adicionados na mesma proporção, um detergente aniônico (alquil-lauril sulfato de sódio) capaz de emulsificar os lipídios das membranas dos leucócitos presentes no leite, com

conseqüente liberação de material nucléico, sendo que o DNA liberado produz uma viscosidade que caracteriza esta reação. A gelificação da mistura descrita acima, proporcional à quantidade de células presentes.

Foram dados escores de acordo com a ausência de reação (0) ou presença de traços, 1+, 2+ ou 3+ no referido teste, que correspondiam à intensidade do processo inflamatório (RADOSTITIS; LESLIE; FETROW, 1994; THIERS et al., 1999), conforme observado no quadro 1.

CMT	Escore	Celulas/ml leite	Polimorfonucleares (PMN)
Negativo	0	0 – 200.000	25%
Traços	0,5	150.000 – 400.000	30 – 40%
1+	1	300.000 – 1.000.000	40 – 60%
2+	2	700.000 – 2.000.000	60 – 70%
3+	3	> 2.000.000	70 – 80%

Quadro 1 - Escores de California Mastitis Test (CMT) comparados com contagem de células somáticas no leite e a respectiva porcentagem de células polimorfonucleares no leite

4.2.2 Contagem Eletrônica de Células Somáticas (CCSE)

As amostras de leite foram colhidas em frasco com o conservante dicromato de potássio a 1% ($K_2Cr_2O_7$) e enviadas ao Laboratório de Qualidade do Leite da Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora/MG, sob refrigeração, para contagem de células somáticas pelo método fluoro-opto-eletrônico, em equipamento Somacount 300 (Bentley Equipments). A metodologia empregada seguiu as recomendações da Federação Internacional de Lácteos (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, 1995).

O aparelho é composto por cinco estruturas, que formam o sistema óptico de leitura, a saber:

1. Conjunto de fluidos como o corante Brometo de Etídio ($C_{21}H_2OBrN_3$) e o de carreamento, que é o detergente RBS;
2. Computador;
3. Canhão de laser;
4. Leitor denominado “Flow Cell”;
5. Tubo fotomultiplicador, que faz a conversão de impulsos luminosos para impulsos elétricos.

Neste equipamento o leite é aspirado, misturado em uma solução que cora o núcleo das células somáticas. A contagem eletrônica das células é feita pelo exame de citometria de fluxo, no qual os impulsos luminosos (fluorescentes, sob luz ultravioleta) emitidos pelas células, decorrentes da associação DNA-corante (brometo de etídio), após sua conversão em impulsos elétricos no tubo fotomultiplicador, são lidos pelo aparelho. As células fluorescentes, ao passarem pelo fluxo, carreadas por uma pequena corrente do fluido (RBS), ao serem bombardeadas por um feixe de laser, produzem uma explosão luminosa, de curta refração, que atravessa uma série de filtros ópticos e lentes, sendo focada em um comprimento de luz apropriado. Esses pulsos de luz são convertidos em pulsos elétricos, amplificados, eletronicamente filtrados e ordenados por tamanho para que se especifiquem as células somáticas. O computador acoplado conta os pulsos elétricos, traduzindo a contagem de leucócitos.

4.2.3 Contagem Óptica de Células Somáticas (CCSO)

A contagem de células somáticas pela observação microscópica foi feita no laboratório de Doenças Infecciosas do Departamento de Epidemiologia e Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, São Paulo/SP, segundo

o método de Prescott e Breed (1910), modificado com a coloração de hematoxilina-eosina (HE) segundo Benites, Melville e Costa (2001).

De acordo com a técnica, um volume de 10µl de cada amostra foi distribuído em uma área de 1cm² em lâmina de vidro previamente higienizada e desengordurada. Após a secagem durante 24 horas, os esfregaços foram fixados em metanol por 15 minutos e colocadas novamente para secar em temperatura ambiente sendo posteriormente corados.

As contagens de células somáticas foram feitas usando-se microscopia óptica comum, com objetiva de imersão 100x e ocular 10x.

4.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS

As amostras de leite colhidas assepticamente para realização de culturas microbianas, foram transportadas sob refrigeração para processamento no Laboratório de Microbiologia da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora/MG.

Para o cultivo dessas alíquotas semeou-se 10µl de leite de cada amostra, com alça calibrada e descartável, em ágar-sangue com 5% de sangue desfibrinado de carneiro e incubado em aerobiose a 37°C, com leituras em 24 e 48 horas. As colônias isoladas foram observadas quanto à morfologia, tamanho, pigmentação e presença de hemólise.

Os microrganismos isolados foram observados ao microscópio por meio de esfregaços corados pelo método de Gram, identificados como *Staphylococcus aureus* de acordo com a produção de catalase, coagulação do plasma de coelho e produção de acetoina (HARMON; EBERHART; JASPER, 1990).

Nas amostras coletadas nos dias 08, 09, 10, 11, 15, 17, 23, 30/07/2003 e 06/08/2003, em que houve crescimento e identificação do *Staphylococcus aureus*, foi realizada a contagem de UFC (Unidades Formadoras de Colônias) após 48 horas de incubação.

4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram constituídos três grupos experimentais com seis vacas por grupo. Os animais foram inoculados nos quartos anteriores e posteriores direitos, ficando os quartos ipsilaterais como controles não inoculados. Após o início dos sinais clínicos, os animais receberam os seguintes tratamentos: Grupo Homeopatia, Grupo Antibiótico, Grupo Controle.

4.4.1 Grupo Tratado com Antibiótico

O antibiótico de escolha foi o Cefoperazone Sódico devido ao resultado de susceptibilidade “in vitro” da estirpe de *Staphylococcus aureus* utilizada no experimento. No tratamento, utilizou-se de aplicação intramamária uma vez ao dia por 3 – 5 dias em cada quarto mamário afetado de Cefoperazone Sódico 250mg/seringa (Pathozone[®])(COSTA, 2002; COSTA et al., 1999b).

4.4.2 Grupo Controle

Os animais do grupo controle foram ordenhados quatro vezes ao dia e não recebiam tratamento medicamentoso, no entanto, três vacas manifestaram sinais clínicos muito intensos de mastite e como não respondiam às ordenhas múltiplas, nesta oportunidade foram retiradas do grupo para tratamento, no 2º, 3º e 5º dias pós-inoculação, deixando a partir deste período de participar dos dados recolhidos para análise.

4.4.3 Grupo Tratado com Medicamentos Homeopáticos

Neste grupo foram utilizados os medicamentos: *Phytolacca decandra* 6CH, *Calcarea carbonica* 6CH e *Silicea terra* 6CH, selecionados para cada vaca de acordo com a totalidade de sintomas. Os medicamentos foram administrados pelo método denominado de *plus* descrito a seguir (HAHNEMANN, 1995). Foram diluídos 2 glóbulos de cada medicamento em 300 ml de água e borrifados nas mucosas oro-nasal ou vaginal, com o auxílio de um borrifador; em intervalos de 15 minutos durante uma hora, essa solução era utilizada durante 3 dias. Antes de cada aplicação o recipiente era agitado vigorosamente 10 vezes com o objetivo de potencializar o medicamento (Figuras 7 e 8).

Na fase aguda, os medicamentos foram administrados no período de cada ordenha e à medida que os sinais clínicos, bem como o teste de CMT, regrediam, passou-se a administrar os medicamentos duas vezes ao dia até a negatificação no teste de CMT.

Figura 7 - Administração de medicação homeopática por aspensão de mucosa oro-nasal

Figura 8 - Administração de medicação homeopática por aspersão de mucosa mucosa vaginal

4.4.3.1 Escolha do Medicamento Homeopático

A seleção do medicamento homeopático necessita de um critério estabelecido para ser feita. Há duas etapas importantes a serem realizadas: a repertorização dos sinais clínicos e o estudo da Matéria Médica Pura.

4.4.3.1.1 Repertorização

Para a seleção de medicamentos homeopáticos empregados no tratamento das vacas, os sintomas foram modalizados e repertorizados de acordo com Eizayaga (1991).

Os sinais repertorizados foram encontrados no capítulo 28, onde estão os sintomas e sinais relativos a peito, conforme visto no quadro 2.

Sintoma	Apis	Bell	Bor	Bry	Calc	Con	Merc	Phos	Phyt	Sil	Sulph
Dolor, mamas 527/I	01	03	02	02	02	03	03	02	02	03	02
Dolor, dolorido, mamas 531/III	01	02	--	02	02	02	02	01	02	03	--
Hinchazón, mamas 541/II	01	02	--	02	02	02	02	02	02	03	02
Hinchazón, mamas, caliente 541/III	--	02	--	01	02	--	02	02	--	--	--
Hipertrofia, mamas 541/III	--	--	--	--	02	02	--	--	02	--	--
Induración, mamas 542/I	01	02	--	02	02	03	02	02	02	03	02
Inflamación, mamas 542/II	02	03	--	03	01	02	02	02	03	03	03
Nódulos, mamas 543/II	--	02	--	02	--	03	--	02	03	03	02
Leche, amarilla 543/I	--	--	--	--	--	--	--	--	01	--	--
Leche, ausência 543/I	01	02	01	02	03	--	01	--	--	--	01
Leche, caseosa 543/I	--	--	02	--	--	--	--	--	02	--	--
Leche, espesa y sabe mal 543/I	--	--	02	--	--	--	--	--	02	--	--
Leche, filamentosa 543/I	--	--	01	--	--	--	--	--	02	--	--
Leche, mala 543/I	--	--	02	--	03	--	02	--	--	01	--
TOTAL	07/14	18/14	10/14	16/14	17/14	17/14	16/14	13/14	23/14	19/14	14/14

Quadro 2 – Seleção das manifestações clínicas das vacas inoculadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus* e dos sintomas encontrados no Capítulo 28 – Peito do Repertório de Eizayaga. Adaptado de Eizayaga (1991)

4.4.3.1.2 Matéria Médica

A seleção dos medicamentos baseou-se na repertorização e pelo estudo das Matérias Médicas Puras de Hahnemann e Hering.

Os sintomas descritos dos medicamentos *Calcarea carbonica*, *Phytolacca decandra* e *Silicea terra* foram os que mais se assemelharam ao quadro de mastite das vacas do presente trabalho.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Nas análises estatísticas foi utilizado o “software” GRAPHPAD INSTAT 1990 - 1993 e os testes utilizados foram: os de Teste de Tukey-Kramer, teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis teste estatístico de medidas repetidas não paramétricas de Friedman, o teste de comparações múltiplas de Dunn, o Teste comparativo de Mann-Whitney e ANOVA.

O teste estatístico não-paramétrico de Kruskal-Wallis e o teste de comparações múltiplas de Dunn foram utilizados nas seguintes análises: comparação da quantidade de células somáticas feitas através de microscopia óptica dentro dos grupos de homeopatia e controle; análise de celularidade óptica entre os grupos antibiótico, controle e homeopatia; contagens eletrônicas de células somáticas entre os grupos antibiótico, controle e homeopatia; análise de porcentagem de polimorfonucleares dentro dos grupos de homeopatia e controle e entre os grupos antibiótico, controle e homeopatia; avaliação de porcentagens de polimorfonucleares dentro dos grupos antibiótico e homeopatia

Para a análise de celularidade óptica dentro do grupo antibiótico foram utilizados o teste estatístico de medidas repetidas não paramétricas de Friedman e o teste de comparações múltiplas de Dunn.

Para a análise da mediana de escores de CMT foi empregado o Teste de Mann-Whitney.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

O grupo Controle que existia inicialmente no delineamento do experimento ficou comprometido porque 3 animais, isto é, 50% do lote precisaram ser medicados e por este motivo os dados obtidos com estes animais não foram considerados quando comparado com os outros grupos.

Os resultados obtidos tanto das Contagens de Células Somáticas quanto das UFC estão descritos na tabela 1

5.1 CONTAGEM DE CÉLULAS

Após a inoculação dos quartos mamários laterais direitos, observou-se um aumento na contagem de células somáticas no leite dos animais, indicando que o quadro de mastite esperado havia sido instalado. Sendo que o dia 07/07/2003 é o dia anterior e o dia 09/07/2003 é o dia posterior à inoculação.

Pelas medianas das contagens de células somáticas eletrônicas (CCSE) para o grupo antibiótico 708.000 (2.957.000 - 6.096.000) e para o grupo homeopatia 1.865.500 (88.000 - 5.047.000) (Gráfico 1) e das contagens de células somáticas ópticas (CCSO) para o grupo antibiótico 1.408.066 (141.936 - 25.161.318) e para o grupo homeopatia 1.388.711 (74.194 - 9.545.172) (Gráfico 2) houve, após a inoculação dos quartos mamários direitos, um aumento estatisticamente significativo ($P < 0.001$) nas contagens de células somáticas no grupo antibiótico e um aumento estatisticamente significativo ($P < 0.0068$) nas contagens de células do grupo homeopatia (Tabela 1).

Tabela 1. Comparações das medianas das Contagens de células somáticas ópticas (CCSO) e eletrônicas(CCSE), Porcentagens de células polimorfonucleares (%PMN), Escore de California Mastitis Test (CMT) e Unidades Formadoras de Colônias por mililitro de leite (UFC) das amostras de leite colhidas das vacas que compunham os grupos experimentais tratados com medicamento Homeopático (Homeopatia) e o grupo tratado com cefoperazone sódico (Antibiótico) no período de 07 de julho a 30 de julho de 2003 pela Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco, Estado de Minas Gerais

			7/jul	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
Homeopatia	CCSO	Mediana	-	1.388.711	617.743	446.775	170.968	254.839	282.258	354.839
		Mínimo	-	74.194	70.968	293.549	38.710	48.387	67.742	29.032
		Máximo	-	9.545.172	1.490.324	1.216.130	464.517	1.058.066	2.361.293	3.103.229
	CCSE	Mediana	13.000	1.865.500	3.037.000	1.266.500	572.000	1.192.500	507.500	841.500
		Mínimo	-	88.000	341.000	681.000	293.000	240.000	32.000	94.000
		Máximo	-	5.047.000	4.394.000	3.451.000	3.023.000	3.470.000	3.470.000	2.411.000
	%PMN	Mediana	-	94,44	89,07	83,68	85,78	83,44	79,32	83,43
		Mínimo	-	82,61	67,25	35,92	58,33	33,33	35,71	11,11
		Máximo	-	98,38	95,52	93,58	96,67	89,36	85,71	93,68
	CMT	Mediana	-	0,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,50	0,00
		Mínimo	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
		Máximo	-	2,00	3,00	2,00	1,00	1,00	1,00	0,00
	UFC/ml	Mediana	-	250	0	800	400	800	100	100
		Mínimo	-	0	0	0	0	0	0	0
		Máximo	-	4.700	3.200	10.000	100.000	100.000	100.000	20.000
Antibiótico	CCSO	Mediana	-	1.408.066	837.098	927.420	183.871	190.323	50.000 ^a	61.290
		Mínimo	-	141.936	119.355	251.613	16.129	51.613	12.903	3.226
		Máximo	-	25.161.318	3.383.875	4.329.037	435.484	1.335.485	541.936	2.645.164
	CCSE	Mediana	4.000	2.957.000	2.124.000	1.814.500	630.000	650.500	1.024.500	8.000 ^b
		Mínimo	-	708.000	430.000	775.000	27.000	284.000	70.000	1.000
		Máximo	-	6.096.000	6.169.000	4.622.000	2.117.000	6.086.000	2.266.000	636.000
	%PMN	Mediana	-	95,42	93,58	86,05	78,09	69,67	54,10 ^c	48,08
		Mínimo	-	86,36	70,27	45,09	60,00	40,63	25,00	0,00
		Máximo	-	99,35	97,18	93,96	90,00	79,03	76,79	100,00
	CMT	Mediana	-	0,0	0,5	1,0	1,0	1,0	0,0	0,0
		Mínimo	-	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00
		Máximo	-	0,00	1,00	2,00	2,00	1,00	1,00	2,00
	UFC/ml	Mediana	-	1.600	1.300	50.000	0	0	0	0
		Mínimo	-	0	0	0	0	0	0	0
		Máximo	-	7.500	100.000	50.000	700	0	900	10.000

a = Média estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do CCSO Homeopatia

b = Média estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do CCSE Homeopatia

c = Média estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média de %PMN do CCSO Homeopatia

Gráfico 1 – Contagem de células somáticas por meio eletrônico dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

Gráfico 2 – Contagem de células somáticas por microscopia óptica dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

A mediana das porcentagens de polimorfonucleares dos grupos antibiótico e homeopatia foi respectivamente de 95,42% (86,36 - 99,35) e 94,44% (82,61- 98,38) (Tabela 1).

Não há diferença na CCS entre o grupo antibiótico e o grupo homeopatia, só a partir do 15º dia em diante, verificou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0.01$) na contagem óptica, enquanto que na contagem eletrônica a diferença estatística foi observada no 23º dia do experimento.

Verificou-se que os resultados das medianas dos CMTs dos quartos inoculados e tratados com homeopatia, não foram estatisticamente significantes quando comparados aos tratados com Cefoperazone (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Escores de *California Mastitis Test* dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

5.2 MICROBIOLÓGICO

No dia anterior à inoculação não havia isolamento de bactérias nos quartos dos animais do experimento. Após a inoculação foi possível isolar e quantificar as colônias de *Staphylococcus aureus* nos lotes experimentais (Gráfico 4).

Dentro do grupo Antibiótico ocorreu uma diminuição no isolamento de colônias estatisticamente significativa ($P < 0.0001$) a partir do 4º dia do experimento (11/07) quando comparado do 9º dia (15/07) em diante.

Dentro do grupo Homeopatia ocorreu uma diminuição no isolamento de colônias estatisticamente significativa ($P < 0.0036$) a partir do 10º dia do experimento (17/07) em diante, quando comparado do 2º dia (09/07).

Tanto nos animais tratados com antibióticos como naqueles tratados com medicamentos homeopáticos houve isolamento de *Staphylococcus aureus* após o final do experimento.

Gráfico 4 – Contagem de unidades formadoras de colônias dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

6 DISCUSSÃO

A mastite é considerada a doença que causa os maiores prejuízos à produção leiteira, devido à redução na quantidade e qualidade o leite e os derivados lácteos, presença de antimicrobianos no leite e conseqüentemente acrescenta-se o custo com medicamentos, da mão-de-obra e tempo de descarte do leite após tratamento, até a total eliminação os resíduos de antibióticos utilizados (COSTA et al., 1999b; SANTOS, 2003). Além das perdas anteriormente citadas verifica-se a presença de processos de reparo que juntamente com o processo inflamatório local diminuem o tecido secretor da glândula mamária (BENITES et al., 2002) e esta condição pode ser confirmada por estudos sobre a relação entre queda da produção e altas contagens de células somáticas. (BRITO; BRITO, 1998; RIBAS,1996).

Quando se verifica a presença de mastite clínica, observa-se alterações visíveis na glândula mamária e/ou na secreção láctea, e ainda no quadro agudo destes processos inflamatórios há sinais de edema, dor, calor e rubor, além de alterações no leite como grumos e coágulos (COSTA, 1998).

No presente trabalho os sinais clínicos de mastite começaram a ser observados no dia seguinte à inoculação, com todos os sinais característicos da mastite aguda tanto na glândula mamária como no aspecto da secreção láctea, o que significa que a inoculação de *Staphylococcus aureus* induzida artificialmente produziu a doença a ser estudada.

De acordo com conceitos de higiene e sua relação com saúde observa-se que a produção leiteira vem baseando-se principalmente na terapêutica alopática, e o aumento do uso de antibióticos ocorre em função da persistência de certos microrganismos resistentes. Dentre eles o *Staphylococcus aureus*, é um dos mais patogênicos e causa uma infecção geralmente crônica, diminuindo gradativamente a produção leiteira, sendo de difícil controle uma vez que apresenta geralmente resistência à penicilina e outros antibióticos. Essa

característica é um dos fatores que tem contribuído para o aumento de sua prevalência em algumas regiões. (BENITES et al., 2002; COSTA et al., 2000; LANGENEGGER; ESTELITA; BAHIA, 1981).

O uso continuado de um determinado antibiótico no tratamento das vacas desencadeia um processo de seleção nos microrganismos que mantém linhagens resistentes ao princípio ativo. Isto obriga a indústria a sintetizar continuamente novos produtos químicos, num círculo vicioso que gera dependência destes insumos no processo produtivo, com conseqüências indesejáveis no custo de produção e na saúde pública. Uma ocorrência comum nessa produção é o não cumprimento do período de carência recomendado quando se utilizam antibióticos, para o aproveitamento do leite (COSTA et al., 2000; FAGUNDES et al., 1982). Mesmo se cumprindo este período, na maioria dos antibióticos, os prazos recomendados são insuficientes, conforme demonstraram alguns autores. Com isto os resíduos desses medicamentos são encontrados no leite que está a venda ao consumidor. (COELHO, 2003; FAGUNDES, 2003; FAGUNDES et al., 1982)

O custo médio dos casos clínicos de mastite é de US\$100,00/caso, incluindo-se nesse valor: perda da produção de leite, descarte de leite, custo de tratamento e custos associados ao descarte, morte prematura e trabalho extra. Sendo que as maiores perdas estão associadas com a perda de produção e o leite descartado com resíduos de antibióticos (SANTOS, 2003).

Nos tratamentos convencionais se utilizam preferencialmente antimicrobianos por via intramamária (ZIV, 1992) ou mesmo outras vias de aplicação em conjunto (COSTA, 2002; SANDHOLM; KAARTINEN; PYÖRÄLÄ, 1990) para controlar esses casos e até mesmo como tratamento preventivo.

No presente estudo foram avaliados os custos de tratamento da mastite infecciosa aguda com antibiótico e medicamentos homeopáticos.

Como tratamento convencional, usou-se o Cefoperazone Sódico 250mg/seringa (Pathozone[®]) em aplicação intramamária uma vez ao dia por 3 – 5 dias em cada teto afetado. Em média cada aplicação tinha o custo médio de R\$4,50/bisnaga. O custo do tratamento com homeopatia era aproximadamente de R\$0,04/animal/a cada 3 dias . Portanto, sob o aspecto de custo de tratamento mesmo mantendo-se o descarte do leite do animal tratado, observa-se a vantagem no uso de medicamentos homeopáticos no tratamento de mastite clínica em vacas leiteiras.

A Lei do MAPA N°10.831 (BRASIL, 2003), institui que nos tratamento dos animais em produção orgânica, sejam utilizados medicamentos homeopáticos devido à ausência de resíduos no leite, porém Hahnemann (1995) na nota do parágrafo 284, afirma que em crianças lactentes doentes deve-se administrar o medicamento homeopaticamente escolhido à lactante para que esta, através de seu leite possa transmitir a ação medicamentosa ao doente. Desta forma seria prudente se manter o descarte total do leite do animal tratado homeopaticamente uma vez que se desconhecem os efeitos que os medicamentos homeopáticos presentes no leite das vacas tratadas possam causar em consumidores humanos.

Em tratamentos convencionais o período de tratamento das mastites clínicas varia de 3-5 dias (56,09%), 6-10 dias (19,21%) e 11-15 dias (13,45%) os demais ficam entre 16 até 30 dias de tratamento (COSTA et al., 1999b).

No presente trabalho, o número de dias necessários para os tratamentos com antibióticos esteve de acordo com o observado na literatura.

O poder curativo dos medicamentos homeopáticos depende dos sintomas serem semelhantes aos da doença, mas superiores em força, de modo a eliminá-los e remover a doença natural de maneira mais correta, radical, rápida e permanente do organismo apenas por um remédio (HAHNEMANN,1995).

Em trabalhos semelhantes utilizando homeopatia no tratamento de mastites, alguns autores trabalharam utilizando bioterápicos feitos a partir do leite contaminado ou de microrganismos isolados envolvidos no surgimento do quadro infeccioso, associados ou não a medicamentos homeopáticos (BARLOW et al., 2001; EGAN, 1998; MITIDIERO, 2002; THOMAZ, 2004). Em outros trabalhos os tratamentos foram feitos somente com medicamentos homeopáticos em complexos, isto é, vários medicamentos com sintomas semelhantes, fornecidos simultaneamente aos animais (EGAN, 1995; SEARCY; REYES; GUAJARDO, 1995; SONNENWALD, 1988).

Thomaz (2004) utilizou uma associação do medicamento homeopático *Silicea terra* e de um bioterápico composto dos seguintes gêneros de microrganismos *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* e *Serratia*, no tratamento de mastites subclínicas e concluiu que esse tratamento não foi eficaz para reduzir o número de animais afetados.

Em seu trabalho, Mitidiero (2002) utilizou preventivamente e terapeuticamente bioterápicos em complexo constituído de estirpes bacterianas provenientes de leite infectado, um complexo de medicamentos homeopáticos composto por: *Lac vaccinum defloratum* 12CH, *Carbo animalis* 12CH, *Phytolacca decandra* 12CH, *Pulsatilla nigricans* 12CH, *Sulphur* 12CH, o medicamento homeopático *Silicea terra* 30CH, um auto-isoterápico 30CH e o bioterápico *Staphylococcinum* 12CH. De acordo com esta autora, o uso de medicamentos homeopáticos em complexo, bioterápicos e fitoterápicos associados permitem manter a sanidade do rebanho em padrões semelhantes aos da alopatia, constituindo-se assim em opção viável para a bovinocultura leiteira. No entanto, segundo a autora, o bioterápico, bem como qualquer medicamento de outras terapêuticas, pode não responder de forma desejável a todos os animais.

Barlow et al. (2001) utilizaram um complexo de bioterápicos na 30CH, composto pelos seguintes agentes infecciosos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalatiae*, *Escherichia coli* e *Klebsiella spp* no tratamento de mastite subclínica. Neste trabalho não foi encontrada diferença significativa entre o grupo tratado com os bioterápicos e o grupo controle que era tratado com placebo.

No trabalho de Egan (1998), pesquisando 234 propriedades leiteiras, encontrou que 22,2% (52) utilizavam bioterápicos no tratamento de mastite clínica e destes 43,8% (21) informaram ter obtido sucesso no tratamento.

Hovi e Roderick (2000) observaram que a homeopatia, particularmente bioterápicos, eram utilizados para controle de mastite em 49,8% de 34 fazendas orgânicas de leite avaliadas no Reino Unido.

Searcy, Reyes e Guajardo (1995) optaram por um tratamento para mastite subclínica no qual foi utilizado um complexo homeopático composto de *Phytolacca decandra* 200CH, *Phosphorus* 200CH e *Conium maculatum* 200CH com bons resultados quando comparado ao grupo controle, que só recebia placebo.

Neste trabalho foram observados os sinais de mastite que as vacas do experimento apresentavam e tratadas com medicamentos homeopáticos de acordo com a técnica proposta por Hahnemann (1995) de medicar com um medicamento de cada vez, utilizando medicamentos homeopáticos que já estivessem descritos nas Matérias Médicas Puras de modo a ter maior segurança na escolha dos medicamentos que foram experimentados anteriormente e que têm seus sintomas e sinais bem conhecidos.. Para isto foram estudadas as Matérias Médicas Puras de Hahnemann e Hering dos medicamentos *Calcarea carbonica*, *Phytolacca decandra* e *Silicea terra*, que apresentaram a maior semelhança ao quadro de mastite dos animais do presente trabalho.

Embora alguns autores tenham descrito resultados positivos com o uso de bioterápicos, a opção foi de não utilizá-los neste trabalho. A mastite clínica requer uma ação terapêutica imediata após serem constatados os primeiros sinais, e na prática não se sabe qual é o microrganismo envolvido no quadro infeccioso a não ser após o isolamento e identificação, que pode durar poucos ou vários dias, de acordo com a disponibilidade de um laboratório capacitado para tal finalidade.

Em um trabalho realizado por Brito et al. (2000), caracterizando apenas biótipos de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina em 44 rebanhos leiteiros, foram identificados 10 biotipos distintos.

Mesmo que seja utilizado um complexo composto pelos agentes infecciosos mais comumente envolvidos nas mastites, a facilidade com que esses microrganismos sofrem mudanças, além da variabilidade e diversidade de biótipos, faria com que não houvesse garantia de estar fornecendo exatamente o mesmo agente envolvido no quadro clínico daquele momento.

Colher material para a produção de um auto-bioterápico também é demorado uma vez que há necessidade de isolar primeiro os agentes envolvidos naquele quadro clínico para só posteriormente elaborar o medicamento. Essa opção tornaria extremamente difícil a prática da homeopatia na produção animal e praticamente impossível em grande parte das propriedades leiteiras do país onde não há disponibilidade de laboratórios de microbiologia e nem farmácias homeopáticas.

Também foi descartado o uso de vários medicamentos homeopáticos em complexo porque os efeitos desses medicamentos fornecidos simultaneamente são desconhecidos, uma vez que as matérias médicas puras fazem descrições detalhadas somente dos medicamentos dados individualmente. Pode ocorrer uma potencialização, uma complementação, surgimento de efeitos inesperados ou mesmo uma anulação de ação de cada medicamento.

Na prática é possível ter uma botica homeopática na propriedade, que contenha os medicamentos homeopáticos mais comuns para resolver os problemas sanitários de maior frequência na rotina diária. A partir dos sinais, seleciona-se o medicamento com maior semelhança com o quadro clínico em questão e fornece-se ao animal observando ao longo do tratamento quais são as mudanças que ocorrem ou se é necessário mudar a medicação por outra mais adequada.

Os sinais e sintomas importantes para este estudo, encontrados nas Matérias Médicas Puras de Hahnemann e Hering estão relacionadas a seguir (HAHNEMANN, 1994; HERING, 1994):

1. *Calcarea carbonica* (Hahnemann)

1120. As mamas da mulher são dolorosas, como se ulcerando, especialmente quando tocadas.

Dor como de esfoladura no mamilo direito, ao mínimo toque.

1125. Inchaço e inflamação do mamilo esquerdo, com pontadas finas nele (após 4^o d.).

Inchaço e calor externo da mama direita.

Inchaço nas glândulas da mama direita, com dor ao tocá-la.

O leite nas mamas de uma mulher que amamenta, seca (após 48 h.).

2. *Silicea terra* (Hahnemann)

730. Endurecimento na parte carnosa do lado esquerdo do peito.

3. *Calcarea carbonica* (Hering)

- Profusa secreção de leite aguado, que a criança recusa a ingerir.
- Lactação excessiva; extrema fraqueza e sudorese; debilidade como consequência.
- Mamas distendidas, leite escasso; ela está fria, sente o ar esfriar prontamente; há um grande esforço para secretar leite.
- Deficiência de leite; a glândula mamária não está cheia.
- Ausência de leite em vacas, depois de severa enfermidade.
- Endurecimento dos tetos.
- Edema quente das mamas.
- Mamas endurecidas, mas não quentes.
- As glândulas mamárias doem como se estivessem supurando, especialmente ao serem tocadas.
- Hipertrofia glandular e endurecimento das mamas.
- Ulceração maligna das mamas.
- Induração da mama, fibrosamento.
- O leite apresenta um sabor desagradável e nauseabundo; a criança não mama e chora muito.

4. *Phytolacca decandra* (Hering)

- Sensibilidade na mama: ausência de inchaço, induração ou tumoração; somente dor durante o período menstrual; durante a lactação.
- Mastite.
- Inflamação, inchaço e supuração da mama.
- Abscessos ou úlceras fistulosas da mama.
- Tumorações, fibroses e câncer de mama.

- Hipertrofia das mamas e útero.
- Mama esquerda ligeiramente tumefacta.
- Tetos rachados e escoriados.
- Endurecimento da glândula mamária; mamas duras como pedras após o desmame.
- Mama quente, dolorida, inchada; três semanas depois do parto.
- Mama inflamada, macia, muito inchada, dura, dolorida; leite espesso e filamentosos.
- Glândula mamária cheia de nodosidades duras e doloridas.
- Vermelhidão, sensibilidade, e indurações nodulares das mamas.
- Poucos dias após o parto as mamas tornaram-se subitamente duras e inflamadas e o fluxo de leite cessou; mama esquerda muito edemaciada; dores agudas e lancinantes.
- As mamas apresentam uma tendência forte a endurecer, especialmente quando a supuração é inevitável.
- Inflamação da glândula mamária: o pus formado foi lancetado; aparecimento de fistulas.
- Abscessos mamários; diversos nódulos doloridos e três fistulas com secreção sero-purulenta.
- Glândula mamária aumentada.
- Úlceras fistulosas e granulações insalubres com descargas fétidas.
- Mamas endurecidas; tetos fissurados e escoriados.

5. *Silicea terra* (Hering)

- Inflamação, induração e supuração das mamas; úlceras fistulosas; descarga rala e aquosa ou filamentosos e de odor ofensivo; secreção mamária torna-se purulenta.
- Inflamação dos tetos; racham e ulceram.
- Tumoração dura e nodular das mamas.

- Leite suprimido.
- Mama inchada, vermelho-escuro, sensível, dores queimantes que impedem o descanso à noite.
- Protuberâncias duras na mama.
- Prurido intenso na mama inchada. Fibrosamento.
- Inflamação dos tetos.
- Ferroadas e queimação no teto esquerdo.
- Mama inflamada, vermelho intenso no centro e mais rosado na periferia; inchada, dura e sensível ao toque; constante dor queimante que atrapalha descansar à noite; febre alta.
- Mastite

Neste trabalho, durante o exame clínico dos úberes, foi constatado o quadro de mamite com aumento da consistência da glândula mamária, leite espesso com filamentos e grumos, inchaço, aumento de sensibilidade, úberes doloridos ao toque, rubor nas mamas e tetos, inchaço, calor externo, distensão e endurecimento de mamas e tetos, fibrosamento de tecido glandular mamário, e grumoso, vermelhidão do úbere, inchaço do úbere.

Thiers et al. (1999), estudando a celularidade do leite de vacas com mastite clínica e subclínica sem tratamento nos quartos envolvidos, verificaram uma correlação altíssima entre CMT e CCS direta, o que possibilita a utilização deste teste ao nível de campo com grande segurança.

Devido à ausência de correlação obtida entre CMT e CCSs diretas no presente estudo, há necessidade de monitoramento dos animais estudados através dos resultados das CCSs diretas para a escolha do medicamento, bem como da potência e frequência de administração do mesmo no caso de futuros experimentos.

No presente estudo o CMT foi utilizado para avaliar as glândulas de todos os animais. Os resultados das medianas dos CMTs dos tratamentos com antibiótico e homeopatia foi classificada nos escores descritos pela técnica, não se verificando diferença significativa entre os dois tratamentos.

O método direto de observação de aumento de leucócitos no leite devido a um processo inflamatório na glândula mamária é através da contagem de células somáticas (CCS), que pode ser realizado por métodos eletrônicos ou por microscopia óptica (LANGONI, 2000; RIBAS, 1996). Por esta metodologia é possível diferenciar e quantificar a presença de polimorfonucleares e mononucleares presentes na secreção láctea e não somente a determinação do número absoluto das mesmas (BENITES, MELVILLE, COSTA, 2000; SCHALM, CARROLL, JAIN, 1971).

De acordo com Philpot e Nickerson (1991), na glândula infectada, as células de defesa correspondem de 98 a 99% das células encontradas no leite de acordo com, segundo Ribas (1996), esse número está entre 75% e 98% do total da CCS, pelos estudos de Paape et al. (1979) na glândula mamária infectada predominam principalmente os neutrófilos e segundo Schalm, Carroll e Jain (1971) o número de polimorfonucleares nos quadros de mastite ficam entre 80% e 90%. Os linfócitos perfazem de 20 a 40% do total de células e o restante corresponde a macrófagos e células secretoras descamadas (DANIEL et al., 1991).

As contagens elevadas de polimorfonucleares indicam a presença de uma inflamação aguda, por outro lado contagens baixas como, por exemplo, 40% podem indicar uma lesão crônica (BENITES; MELVILLE; COSTA, 2000).

No presente estudo a porcentagem de polimorfonucleares das amostras de leite dos animais estudados, nos primeiros dias do experimento correspondeu ao quadro de mastite aguda de acordo com o encontrado na literatura. Ao final do período experimental a média de

porcentagem de polimorfonucleares indicou a cronificação do processo inflamatório (Gráfico 5).

Gráfico 5 – Porcentagem de polimorfonucleares dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

Segundo a Instrução Normativa Nº 51, de 18/09/2002 do MAPA no número máximo de unidades formadoras de colônias permitidas no leite Tipo B cru e resfriado é de 5×10^5 UFC/ml (BRASIL, 2002).

No presente estudo ao final do experimento, o grupo antibiótico assim como o grupo homeopatia se encontravam dentro dos parâmetros exigidos legalmente para a comercialização deste tipo de leite.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Através da utilização dos seguintes parâmetros: sinais clínicos, CMT, as contagens de células somáticas eletrônicas e ópticas e UFCs, conclui-se que para o presente estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com antibiótico e medicamentos homeopáticos para mastite clínica causada por *Staphylococcus aureus*.

O custo de aquisição dos medicamentos para o tratamento de mastite aguda utilizando homeopatia é muito inferior ao mesmo tratamento realizado com antibiótico intramamário.

Devido às análises estatísticas utilizadas no presente estudo, seria interessante aumentar o número de animais utilizados em um próximo experimento, a fim de que possam se diminuir os fatores que influenciam na manifestação da mastite e conseqüentemente seja mais fácil analisar os resultados.

Há necessidade que mais pesquisas sejam feitas utilizando medicamentos homeopáticos em todas as áreas de produção animal com objetivo de compreender seu mecanismo de ação e eficácia tanto na prevenção quanto no tratamento das diversas afecções, assim como avaliar os possíveis resíduos homeopáticos nos produtos de origem animal destinados ao consumo, de maneira a difundir essa técnica terapêutica no meio acadêmico e acabar com o preconceito e as distorções que tanto têm prejudicado a difusão mais ampla da Homeopatia Hahnemanniana.

Há hoje uma legislação no Brasil que recomenda a homeopatia na produção animal orgânica. Portanto, é preciso uma grande mobilização que possa suprir essa lacuna em nosso meio acadêmico e agropecuário, de modo a atender a demanda crescente no Brasil e no mundo de alimentos orgânicos de origem animal.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. A. B. Curso introdutório sobre homeopatia. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE HOMEOPATIA NA AGROPECUÁRIA ORGÂNICA, 2., 2001, Espírito Santo do Pinhal: **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. 197 p.

ALMEIDA, L. A. B. Normatização e certificação de produtos orgânicos, leite e derivados. In: BRESSAN, M.; MARTINS, C. E.; VILELA, D. **Sustentabilidade da pecuária de leite no Brasil**. Goiânia: EMBRAPA, 2000. p. 165–174.

ARAÚJO, W. P. **Contituição físico-química, celular e microbiológica de leites tipo A, B e especial colhidos de vacas criadas no estado de São Paulo. Contribuição à semiologia da glândula mamária**. 1994. 124 f. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

BARLOW, J. Organic dairies – mastitis and milk quality challenges. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 40., 2001, Reno. **Proceedings...** Reno: National Mastitis Council, 2001. p. 143-151.

BARLOW, J. W.; MC CRORY, L.; MULLOY, E.; BAHRAWY, D.; WOODARD, S.; CRAFT, L.; MURDOUGH, P.; PANKEY, J. W. Evaluation of a homeopathic nosode for mastitis prevention. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON MASTITIS AND MILK QUALITY, 2., 2001, Vancouver. **Proceedings ...** Vancouver: BC, 2001. p. 258-262.

BENITES, N. R. Homeopatia. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária** – 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 700-708.

BENITES, N. R. A homeopatia através dos séculos. **Clínica Veterinária**, v. 4, n. 20, p. 36, 1999.

BENITES, N. R.; GUERRA, J. L.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Aetiology and histopathology of bovine mastitis of expontaneous occurrence. **Journal of Veterinary Medicine B**, v. 49, p. 366-370, 2002.

BENITES, N. R.; GUERRA, J. L.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Etiologia e histopatologia de mastites bovinas de ocorrência espontânea. **NAPGAMA**, v. 4, n. 1, p. 3-8, 2001.

BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Features and intensity of inflammatory responses in bovine mammary glands. In: SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGY OF

RUMINANT MAMMARY GLAND, 2000, Stresa. **Proceedings ...** Itália: Stresa, 2000. p. 30-35.

BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; COSTA, E. O. Modificação da técnica de contagem de células somáticas de Prescott & Breed utilizando-se a coloração hematoxilina e eosina. **NAPGAMA**, v. 4, n. 3, p. 6-9, 2001.

BIRGEL, E. H. Avaliação das provas utilizadas no diagnóstico da mastite bovina. In: CURSO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA, 1982, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 177-213.

BLOOD, D. C.; RADOSTITIS, O. M. Mastitis. In: _____. **Veterinary medicine**. 7. ed. London: Baillière Tindall, 1989. p. 501-559.

BRABES, K. C. S.; CARVALHO, E. P.; DIONÍSIO, F. L.; PEREIRA, M. L.; GARINO JR., F.; COSTA, E. O. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas de gênero *Staphylococcus* na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **NAPGAMA**, v. 2, n. 3, p. 4-11, 1999.

BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine – diseases and husbandry of cattle**. Oxford: Blackwell Scientific, 1992. p. 289-300.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 7, de 17 de Maio de 1999. Dispõe sobre normas para a produção de produtos orgânicos vegetais e animais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 19 maio 1999. Seção 94, p.11.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de Setembro de 2002. Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel, em conformidade com os Anexos a esta Instrução Normativa. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2002. Seção 1, p. 13.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Lei nº 10.831. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 dez. 2003. Seção 1, p. 8.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P. **Descomplicando as células somáticas**. Coronel Pacheco: EMBRAPA –CNPGL, 1998. p. 75-81.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; CORDEIRO, F. M.; COSTA, W. A.; FORTES, T. O. Caracterização de biotipos de *Staphylococcus aureus* isolados de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 425-429, 2000.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 2, p. 129-135, 1999.

CARDOSO, H. F. T.; CARMO, L. S.; SILVA, N. Detecção da toxina-1 da síndrome do choque tóxico em amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 1, p. 7-10, 2000.

COELHO, V. R. P. **Avaliação de resíduos de antimicrobianos no leite de quartos mamários não tratados de vacas com mastite tratadas por via intramamária**. 2003. 102 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 1, n. 1, p. 3-9, 1998.

COSTA, E. O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 15, n. 1, p. 21-26, 1991.

COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 15-17, 1996.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 443-455.

COSTA, E. O.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A.; PARDO, R. B.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. Estudo etiológico da mastite clínica bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 156-158, 1995.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B.; WATANABE, E. T.; VALLE, C. R. Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do estado de São Paulo. **NAPGAMA**, v. 3, n. 4, p. 6-13, 2000.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. A. B. Proporção da ocorrência de mastite clínica em relação à subclínica correlacionada aos principais agentes etiológicos. **NAPGAMA**, v. 4, n. 3, p. 10-13, 2001.

COSTA, E. O.; RAIÁ, R. B.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; GROFF, M. R. Presença de resíduos de antibióticos no leite de pequena mistura de propriedades leiteiras. **NAPGAMA**, v. 2, n. 1, p. 10-13, 1999a.

COSTA, E. O.; SÁ, R.; PONCE, H.; WATANABE, E. T.; VALLE, C. R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia terapêutica medida em número de dias em tratamento. **NAPGAMA**, v. 2, n. 2, p. 10-14, 1999b.

CULLEN, G. A. Cells in milk. **Veterinary Bulletin**, v. 36, p. 337-346, 1966.

DANIEL, L. R.; CHEW, B. P.; TANAKA, T. S.; TJOELKER, L. W. In vitro effects of b-carotene and vitamin A on peripartum bovine peripheral blood mononuclear cell proliferation. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 3, p. 911-915, 1991.

DAROLT, M. R. **A qualidade dos alimentos orgânicos**. Ponta Grossa: Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR, 2003. Disponível em: <http://www.planetaorganico.com.br/daroltqualid.htm>. Acesso em: 17 setembro 2004.

DAY, C. E. I. Alternative medicine. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Bovine medicine** : diseases and husbandry of cattle. Oxford: Andrews, 1992. Chapter 59, p. 886-905.

DEGRAVES, F. J.; FETROW, J. Economics of mastitis and mastitis control. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 421-434, 1993.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.; STÖBER, M. R. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

DOBBINS JR., C. N. Mastitis losses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 10, p. 1129-1132, 1977.

DU PREEZ, J. H.; GIESECKE, W. H. Mastitis. In: COETZER, J. A. W. (Ed). **Infectious diseases of livestock**. London: Oxford University Press, 1994. p. 1564-1595.

EGAN, J. A questionnaire survey on the uptake of homoeopathic mastitis remedies in Irish dairy herds. **Irish Veterinary Journal**, v. 51, n. 3, p. 141-143, 1998.

EGAN, J. Evaluation of a homoeopathic treatment for subclinical mastitis. **Veterinary Record**, v. 135, n. 3, p. 48, 1995.

EIZAYAGA, F. X. **El moderno repertório de Kent**. Buenos Aires: Ediciones Marecel, 1991. 855 p.

ERSKINE, R. J.; KIRK, J. H.; TYLER, J. W.; DEGRAVES, F. J. Advances in the therapy for mastitis. **Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 499-517, 1993.

FAGUNDES, C. M.; SANTOS, E. C.; SANTOS, E. C.; RODRIGUES, R. Prevalência de antibióticos no leite tipo B e C consumido em Belo Horizonte. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v. 34, n. 1, p. 203-206, 1982.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção de lactação subsequente em animais com período seco recomendado**. 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 34, n. 4, p. 1315-1320, jul:ago. 2004.

FONSECA, M. F. A. C. Cenário da Produção e da Comercialização dos Alimentos Orgânicos. In: FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. **Produção orgânica de leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 93-111.

FRANCO, D. A.; WEBB, J.; TAYLOR, C. E. Antibiotic and sulfonamide residues in meat: implications for human health. **Journal of Food Protection**, v. 53, n. 2, p. 178-185, 1990.

GRAPHPAD instat software. Statistical analysis systems for personal computers. S.I., 1990-1993.

GRUNERT, E. Sistema genital feminino. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 269-314.

HAHNEMANN, S. **Exposição da doutrina homeopática ou Organon da arte de curar.** São Paulo: Grupo de Estudos Homeopáticos de São Paulo “Benoit Mure”, 1995. 191 p.

HAHNEMANN, S. **Matéria médica pura.** Curitiba: Editora Gráfica Arins, 1994. 630l p.

HARMON, R. J.; EBERHART, R. J.; JASPER, D. E. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, 1990, Arlington. **Proceedings...** Arlington, 1990. p. 34.

HERING, C. **The guiding symptoms of our materia medica.** Nova Dehli: B.J. Publishers, 1994. 520 p.

HOVI, M.; RODERICK, S. Mastitis and mastitis control strategies in organic milk. **British Cattle Veterinary Association**, v. 8, n. 3, p. 259-264, 2000.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION - IDF. Milk. Enumeration of somatic cell. Brussels: IDF/FIL, 1995, 8 p. (IDF Standard 148 A).

JAY, J. M. **Microbiologia moderna de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, 1994. 804 p.

KRUTZINNA, C.; BOEHNCKE, E.; HERRMANN, H. J. Organic milk production in Germany. **Biological Agriculture and Horticulture**, v. 13, n. 4, p. 351-358, 1996.

LANGENEGGER, J.; ESTELITA, M. C.; BAHIA, M. G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 2, p. 47-57, 1981.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, v. 3, n. 3, p. 57-64, 2000.

LANGONI, H.; SILVA, A. V.; CABRAL, K. G.; DOMINGUES, P. F. Aspectos etiológicos na mastite bovina. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 20, n. 5, p. 204-210, 1998.

MITIDIERO, A. M. A. **Potencial do uso de homeopatia, bioterápicos e fitoterapia como opção na bovinocultura leiteira:** avaliação dos aspectos sanitários e de produção. 2002. 119 f. Dissertação (Mestrado em Agroecossistemas) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

ORMOND, J. G. P.; PAULA, S. R. L.; FAVERET FILHO, P.; ROCHA, L. T. M. Agricultura orgânica: quando o passado é futuro. **BNDES Setorial**, Rio de Janeiro, n. 15, p. 3-34, mar. 2002.

PAAPE, M. J.; WERGIN, W. P.; GUIDRY, A. J.; PEARSON, R. E. Leukocytes - second line of defense against invading mastitis pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 62, n. 1, p. 135-153, 1979.

PHILPOT, W. N.; NICKERSON, S. C. **Mastitis**: counter attack. Naperville: Babson Bros., 1991. 150 p.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 7, p. 632-640, 1910.

RADOSTITIS, O. M.; LESLIE, K. E.; FETROW, J. Mastitis control in dairy herds. In: _____. **Herd health food animal production medicine**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994. p. 229-276.

RAIA, R. B.; COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; THIERS, F. O.; GROFF, M. R. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **NAPGAMA**, v. 2, n. 1, p. 4-8, 1999.

REBHUN, W. C. Doenças das tetas e do úbere. In: REBHUN, W. C.; GUARD, C.; RICHARDS, C. M. **Doenças do gado leiteiro**. São Paulo: Roca, 2000. 642 p.

RIBAS, N. P. A mastite e a contagem de células somáticas. **Revista Batavo Encarte Técnico**, n. 60, p. 4-6, 1996.

SANDHOLM, M.; KAARTINEN, L.; PYÖRÄLÄ, S. Bovine mastitis – why does antibiotic therapy not always work? An overview. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 13, n. 3, p. 248-260, 1990.

SANTOS, M. V. Impacto econômico da mastite bovina. **A Hora Veterinária**, v. 22, n. 131, p. 46-50, 2003.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. Number and types of somatic cells in normal and mastitic milk. In: _____. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. p. 94-127.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of california mastitis test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199-207, 1957.

SCHUKKEN, Y.H.; MALLARD, B. A.; DEKKERS, J. C. M.; LESLIE, K. E.; STEAR, M. J. Genetic impact on the risk of intramammary infection following *Staphylococcus aureus* challenge. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 2, p. 639-647, 1994.

SEARCY, R.; REYES, O.; GUAJARDO, G. Control of subclinical bovine mastitis – utilization of a homoeopathic combination. **The British Homoeopathic Journal**, v. 84, n. 2, p. 67-70, 1995.

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 Research and Animal Science**, v. 38, n. 1, p. 46-48, 2001.

SIMPÓSIO BRASILEIRO AGROPECUÁRIA ECOLÓGICA E SAÚDE HUMANA. 2000, Rio de Janeiro. **Anais....** Rio de Janeiro: Universidade Federal Fluminense, 2000. 1 disquete.

SONNENWALD, B. M. Homeopathic treatment of acute bovine mastitis. **Dairy Science Abstracts**, v. 50, n. 5, p.158, 1988.

STRENGTHENING the role of farmers. Disponível em:<<http://www.unep.org/Documents/Default.asp?DocumentID=52&ArticleID=82>>. Acesso em: 17 ago. 2004.

THIERS, F. O.; BENITES, N. R.; RIBEIRO, A. R.; COSTA, E. O. Correlação entre contagem direta de células somáticas e o teste de “California Mastitis Test” (CMT) no leite de vacas. **NAPGAMA**, v. 2, n. 4, p. 9-12, 1999.

THOMAZ, L. W. **Efeito da utilização de medicamentos homeopáticos no tratamento da mastite subclínica em vacas leiteiras**. 2004. 66 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.

VILELA, D. Apresentação. In: FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. **Produção orgânica de leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. [3].

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of International Dairy Federation**, n. 345, p. 15-18, 2000.

ZIV, G. Treatment of acute mastitis. **Veterinary Clinics of North America**, v. 8, n. 1, p. 1-16, 1992.

APÊNDICE A - Contagem de células somáticas por meio eletrônico dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Homeopatia – Contagem Total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	7/jul	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul	6/ago
425	AD	10.000	3.655.000	3.828.000	1.355.000	1.737.000	1.130.000	417.000	784.000	1.347.000
	PD	18.000	2.848.000	3.741.000	3.451.000	3.023.000	2.266.000	172.000	1.068.000	1.708.000
427	AD	1.000	3.832.000	4.394.000	1.713.000	448.000	258.000	258.000	632.000	460.000
	PD	2.000	5.047.000	1.901.000	1.032.000	655.000	598.000	598.000	180.000	62.000
526	AD	16.000	3.489.000	3.092.000	-	1.068.000	1.224.000	1.631.000	963.000	704.000
	PD	178.000	1.064.000	3.710.000	-	1.419.000	1.161.000	1.116.000	899.000	1.007.000
8522	AD	1.632.000	88.000	-	733.000	293.000	571.000	3.470.000	212.000	1.155.000
	PD	111.000	101.000	-	2.699.000	489.000	1.294.000	240.000	2.411.000	1.403.000
9485	AD	1.000	1.817.000	2.982.000	-	1.778.000	3.470.000	32.000	1.951.000	1.444.000
	PD	68.000	1.660.000	1.395.000	-	382.000	240.000	44.000	94.000	73.000
9497	AD	7.000	529.000	341.000	681.000	329.000	1.830.000	1.579.000	438.000	168.000
	PD	6.000	1.914.000	804.000	1.178.000	362.000	1.551.000	2.242.000	2.246.000	410.000
Mediana		13.000	1.865.500	3.037.000	1.266.500	572.000	1.192.500	507.500	841.500	855.500
Média		170.833	2.170.333	2.618.800	1.605.250	998.583	1.299.417	983.250	989.833	828.417

APÊNDICE B - Contagem de células somáticas por microscopia óptica dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Homeopatia – Contagem Total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
425	AD	4.451.618	767.743	458.065	464.517	296.775	2.361.293	277.420
	PD	9.545.172	1.125.808	1.016.130	416.129	696.775	1.358.066	432.259
427	AD	1.980.647	480.646	435.484	93.548	96.774	109.678	277.420
	PD	4.096.779	1.151.614	1.216.130	164.516	177.420	83.871	93.548
526	AD	612.904	296.775	400.000	177.420	474.194	435.484	1.567.744
	PD	512.904	496.775	687.098	458.065	361.291	625.807	3.103.229
8522	AD	480.646	1.490.324	351.613	38.710	119.355	135.484	83.871
	PD	796.775	738.710	1.154.840	96.774	151.613	270.968	1.045.162
9485	AD	2.148.389	758.065	0	358.065	1.058.066	1.000.001	764.517
	PD	4.670.973	119.355	0	212.903	48.387	158.065	29.032
9497	AD	74.194	70.968	335.484	103.226	212.903	67.742	209.678
	PD	551.614	109.678	293.549	116.129	454.839	293.549	919.356
Mediana		1.388.711	617.743	417.742	170.968	254.839	282.258	354.839
Média		2.493.551	633.872	529.033	225.000	345.699	575.001	733.603

APÊNDICE C - Contagem de Polimorfonucleares e Mononucleares dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Homeopatia - Contagem Total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	09/ Jul		10/jul		11/jul		15/jul		17/jul		23/jul		30/jul	
		PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN
425	AD	4.280.649,87	170.967,93	541.936,08	225.806,70	164.516,31	293.548,71	406.452,06	58.064,58	245.161,56	51.612,96	1.748.389,02	612.903,90	200.000,22	77.419,44
	PD	9.325.816,71	219.355,08	848.388,03	277.419,66	538.710,27	477.419,88	364.516,53	51.612,96	587.097,42	109.677,54	1.103.227,02	254.838,99	296.774,52	135.484,02
427	AD	1.887.098,85	93.548,49	458.065,02	22.580,67	364.516,53	70.967,82	70.967,82	22.580,67	61.290,39	35.483,91	90.322,68	19.354,86	251.613,18	25.806,48
	PD	3.748.391,22	348.387,48	1.100.001,21	51.612,96	716.129,82	500.000,55	138.709,83	25.806,48	135.484,02	41.935,53	54.838,77	29.032,29	35.483,91	58.064,58
526	AD	574.194,18	38.709,72	248.387,37	48.387,15	338.710,05	61.290,39	151.613,07	25.806,48	416.129,49	58.064,58	348.387,48	87.096,87	1.312.904,67	254.838,99
	PD	464.516,64	48.387,15	474.194,07	22.580,67	600.000,66	87.096,87	416.129,49	41.935,53	312.903,57	48.387,15	493.548,93	132.258,21	2.770.970,79	332.258,43
8522	AD	438.710,16	41.935,53	1.367.743,44	122.580,78	287.097,09	64.516,20	22.580,67	16.129,05	80.645,25	38.709,72	48.387,15	87.096,87	54.838,77	29.032,29
	PD	783.871,83	12.903,24	496.774,74	241.935,75	1.080.646,35	74.193,63	93.548,49	3.225,81	135.484,02	16.129,05	216.129,27	54.838,77	896.775,18	148.387,26
9485	AD	2.045.163,54	103.225,92	722.581,44	35.483,91	322.581,00	322.581,00	280.645,47	77.419,44	929.033,28	129.032,40	783.871,83	216.129,27	635.484,57	129.032,40
	PD	4.461.295,23	209.677,65	93.548,49	25.806,48	322.581,00	322.581,00	145.161,45	67.742,01	16.129,05	32.258,10	106.451,73	51.612,96	3.225,81	25.806,48
9497	AD	61.290,39	12.903,24	61.290,39	9.677,43	280.645,47	54.838,77	90.322,68	12.903,24	164.516,31	48.387,15	58.064,58	9.677,43	187.096,98	22.580,67
	PD	516.129,60	35.483,91	103.225,92	6.451,62	261.290,61	32.258,10	100.000,11	16.129,05	383.871,39	70.967,82	248.387,37	45.161,34	861.291,27	58.064,58
Mediana		1.335.485,34	70.967,82	485.484,41	41.935,53	330.645,53	80.645,25	141.935,64	25.806,48	204.838,94	48.387,15	232.258,32	70.967,82	274.193,85	67.742,01
Média		2.382.260,69	111.290,45	543.011,35	90.860,32	439.785,43	196.774,41	190.053,97	34.946,28	288.978,81	56.720,49	441.667,15	133.333,48	625.538,32	108.064,64

APÊNDICE D - Porcentagem de Polimorfonucleares dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Homeopatia – Contagem total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
425	AD	96,16	70,59	35,92	87,50	82,61	74,04	72,09
	PD	97,70	75,36	53,02	87,60	84,26	81,24	68,66
427	AD	95,28	95,30	83,70	75,86	63,33	82,35	90,70
	PD	91,50	95,52	58,89	84,31	76,36	65,38	37,93
526	AD	93,68	83,70	84,68	85,45	87,76	80,00	83,74
	PD	90,57	95,45	87,32	90,85	86,61	78,87	89,29
8522	AD	91,28	91,77	81,65	58,33	67,57	35,71	65,38
	PD	98,38	67,25	93,58	96,67	89,36	79,76	85,80
9485	AD	95,20	95,32	-	78,38	87,80	78,39	83,12
	PD	95,51	78,38	-	68,18	33,33	67,35	11,11
9497	AD	82,61	86,36	83,65	87,50	77,27	85,71	89,23
	PD	93,57	94,12	89,01	86,11	84,40	84,62	93,68
Mediana		94,44	89,07	83,68	85,78	83,43	79,31	83,43
Média		93,45	85,76	75,14	82,23	81,09	74,45	72,56

APÊNDICE E - Contagem de células somáticas por meio eletrônico dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Antibiótico – Contagem Total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	7/jul	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
494	AD	85.000	1.492.000	1.196.000	775.000	182.000	6.086.000	692.000	636.000
	PD	388.000	894.000	1.619.000	872.000	525.000	1.631.000	919.000	1.000
549	AD	3.000	2.961.000	3.742.000	-	540.000	512.000	1.795.000	5.000
	PD	2.000	1.492.000	2.579.000	1.624.000	975.000	424.000	623.000	-
589	AD	13.000	6.096.000	6.169.000	4.622.000	27.000	1.795.000	678.000	592.000
	PD	6.000	2.953.000	4.453.000	2.648.000	720.000	623.000	385.000	6.000
7548	AD	5.000	4.584.000	1.629.000	2.270.000	1.275.000	692.000	1.130.000	138.000
	PD	82.000	3.332.000	1.669.000	-	2.117.000	919.000	2.266.000	288.000
7555	AD	156.000	3.737.000	4.361.000	888.000	312.000	284.000	1.224.000	7.000
	PD	16.000	4.029.000	430.000	2.586.000	749.000	406.000	1.161.000	1.000
9411	AD	7.000	708.000	4.032.000	830.000	1.315.000	678.000	1.551.000	8.000
	PD	1.000	739.000	1.429.000	2.005.000	373.000	385.000	70.000	118.000
Mediana		10.000	2.957.000	2.124.000	1.814.500	630.000	650.500	1.024.500	8.000
Média		63.667	2.751.417	2.775.667	1.912.000	759.167	1.202.917	1.041.167	163.636

APÊNDICE F - Contagem de células somáticas por microscopia óptica dos quartos mamários direitos
do grupo tratado com Antibiótico – Contagem Total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
494	AD	641.936	383.871	254.839	64.516	51.613	119.355	2.645.164
	PD	529.033	745.162	251.613	151.613	103.226	12.903	6.452
549	AD	1.316.130	1.190.324	845.162	116.129	180.645	61.290	16.129
	PD	2.774.197	1.112.904	1.380.647	216.129	74.194	29.032	1.206.453
589	AD	25.161.318	3.383.875	4.329.037	16.129	1.335.485	374.194	248.387
	PD	18.096.794	458.065	1.009.679	232.258	767.743	29.032	22.581
7548	AD	3.316.133	883.872	1.245.163	309.678	74.194	64.516	90.323
	PD	2.232.261	1.687.099	1.251.614	374.194	277.420	119.355	167.742
7555	AD	141.936	1.135.485	403.226	45.161	125.807	38.710	6.452
	PD	616.130	119.355	480.646	96.774	245.162	29.032	3.226
9411	AD	1.500.002	790.323	1.458.066	229.033	248.387	25.806	32.258
	PD	825.807	290.323	603.226	435.484	200.000	541.936	122.581
Mediana		1.408.066	837.098	927.420	183.871	190.323	50.000	61.290
Média		4.762.640	1.015.055	1.126.077	190.592	306.990	120.430	380.646

APÊNDICE G - Contagem de Polimorfonucleares e Mononucleares dos quartos mamários direitos do grupo tratado com Antibiótico – Contagem total, Medianas e Médias

Animal	Quarto	09/ Jul		10/Jul		11/Jul		15/Jul		17/Jul		23/Jul		30/Jul	
		PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN	PMN	MN
494	AD	625.807	16.129	358.065	25.806	229.033	25.806	48.387	16.129	25.806	25.806	74.194	45.161	2.525.809	119.355
	PD	474.194	54.839	687.098	58.065	222.581	29.032	100.000	51.613	41.936	61.290	3.226	9.677	3.226	3.226
549	AD	1.264.518	51.613	1.122.582	67.742	438.710	406.452	93.548	22.581	103.226	77.419	32.258	29.032	9.677	6.452
	PD	2.667.745	106.452	1.054.840	58.065	622.581	758.065	167.742	48.387	51.613	22.581	12.903	16.129	1.012.904	193.549
589	AD	24.387.124	774.194	2.545.164	838.711	3.896.778	432.259	9.677	6.452	1.000.001	335.484	264.516	109.678	148.387	100.000
	PD	17.774.213	322.581	445.162	12.903	577.420	432.259	196.774	35.484	541.936	225.807	12.903	16.129	0	22.581
7548	AD	3.132.262	183.871	806.453	77.419	758.065	487.097	264.516	45.161	58.065	16.129	41.936	22.581	38.710	51.613
	PD	2.003.228	229.033	1.603.228	83.871	793.549	458.065	283.871	90.323	193.549	83.871	35.484	83.871	77.419	90.323
7555	AD	122.581	19.355	1.054.840	80.645	345.162	58.065	35.484	9.677	77.419	48.387	22.581	16.129	6.452	0
	PD	583.872	32.258	83.871	35.484	451.613	29.032	87.097	9.677	187.097	58.065	16.129	12.903	0	3.226
9411	AD	1.490.324	9.677	741.936	48.387	1.261.292	196.774	187.097	41.936	151.613	96.774	12.903	12.903	12.903	19.355
	PD	758.065	67.742	274.194	16.129	554.839	48.387	329.033	106.452	158.065	41.936	416.129	125.807	45.161	77.419
Mediana		4.606.994	155.645	898.119	116.936	845.969	280.108	150.269	40.323	215.860	91.129	78.764	41.667	323.387	57.258
Média		1.377.421	61.290	774.194	58.065	566.130	301.613	133.871	38.710	127.419	59.677	27.419	19.355	25.806	37.097

**APÊNDICE H - Porcentagem de Polimorfonucleares dos quartos mamários direitos do grupo
tratado com Antibiótico – Contagem total, Medianas e Médias**

Animal	Quarto	9/jul	10/jul	11/jul	15/jul	17/jul	23/jul	30/jul
494	AD	97,49	93,28	89,87	75,00	50,00	62,16	95,49
	PD	89,63	92,21	88,46	65,96	40,63	25,00	50,00
549	AD	96,08	94,31	51,91	80,56	57,14	52,63	60,00
	PD	96,16	94,78	45,09	77,61	69,57	44,44	83,96
589	AD	96,92	75,21	90,01	60,00	74,88	70,69	59,74
	PD	98,22	97,18	57,19	84,72	70,59	44,44	0,00
7548	AD	94,46	91,24	60,88	85,42	78,26	65,00	42,86
	PD	89,74	95,03	63,40	75,86	69,77	29,73	46,15
7555	AD	86,36	92,90	85,60	78,57	61,54	58,33	100,00
	PD	94,76	70,27	93,96	90,00	76,32	55,56	0,00
9411	AD	99,35	93,88	86,50	81,69	61,04	50,00	40,00
	PD	91,80	94,44	91,98	75,56	79,03	76,79	36,84
Mediana		95,42	93,58	86,05	78,09	69,67	54,09	48,08
Média		94,25	90,39	75,41	77,58	65,73	52,90	51,25

APÊNDICE I - Comparação das medianas, valores mínimos e máximos entre contagens de células somáticas por microscopia óptica dos quartos mamários laterais direitos dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

Data	Antibiótico				Homeopatia			
	n	Mediana	Mínimo	Máximo	n	Mediana	Mínimo	Máximo
9/7/2004	12	1.408.066	141.936	25.161.318	12	1.388.711	74.194	9.545.172
10/7/2004	12	837.098	119.355	3.383.875	12	617.743	70.968	1.490.324
11/7/2004	12	927.420	251.613	4.329.037	10	446.775	293.549	1.216.130
15/7/2004	12	183.871	16.129	435.484	12	170.968	38.710	464.517
17/7/2004	12	190.323	51.613	1.335.485	12	254.839	48.387	1.058.066
23/7/2004	12	50.000	12.903	541.936	12	282.258	67.742	2.361.293
30/7/2004	12	61.290	3.226	2.645.164	12	354.839	29.032	3.103.229

APÊNDICE J - Comparação das medianas, valores mínimos e máximos entre contagens de células somáticas por meio eletrônico dos quartos mamários laterais direitos dos grupos tratados com antibiótico e homeopatia

Data	Antibiótico				Homeopatia			
	n	Mediana	Mínimo	Máximo	n	Mediana	Mínimo	Máximo
9/7/2004	12	2.957.000	708.000	6.096.000	12	1.865.500	88.000	5.047.000
10/7/2004	12	2.124.000	430.000	6.169.000	10	3.037.000	341.000	4.394.000
11/7/2004	10	1.814.500	775.000	4.622.000	8	1.266.500	681.000	3.451.000
15/7/2004	12	630.000	27.000	2.117.000	12	572.000	293.000	3.023.000
17/7/2004	12	650.500	284.000	6.086.000	12	1.192.500	240.000	3.470.000
23/7/2004	12	1.024.500	70.000	2.266.000	12	507.500	32.000	3.470.000
30/7/2004	11	8.000 ^a	1.000	636.000	12	841.500	94.000	2.411.000

a = Média estatisticamente significativa ($P < 0.01$) quando comparada à média do CECSH

APÊNDICE K - Comparação da média da contagem de células somáticas por microscopia óptica dos quartos mamários laterais direitos dentro do grupo dos animais tratados com antibiótico

Data	n	Média
09/07/04	12	80.000
10/07/04	12	61.000
11/07/04	12	67.000
15/07/04	12	37.000 ^b
17/07/04	12	39.000 ^c
23/07/04	12	25.000 ^{d/f/h}
30/07/04	12	27.000 ^{e/g/i}

b = Diferença estatisticamente significativa (P<0.0001) quando comparada à média do dia 09/07/04

c = Diferença estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do dia 09/07/04

d = Diferença estatisticamente significativa (P<0.0001) quando comparada à média do dia 09/07/04

e = Diferença estatisticamente significativa (P<0.001) quando comparada à média do dia 09/07/04

f = Diferença estatisticamente significativa (P<0.05) quando comparada à média do dia 10/07/04

g = Diferença estatisticamente significativa (P<0.05) quando comparada à média do dia 10/07/04

h = Diferença estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do dia 11/07/04

i = Diferença estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do dia 11/07/04

APÊNDICE L - Comparação da média da contagem de células somáticas por microscopia óptica dos quartos mamários laterais direitos dentro do grupo dos animais tratados com homeopatia

Data	n	Média
09/07/04	12	62.458
10/07/04	12	46.583
11/07/04	10	49.150
15/07/04	12	24.458 ^a
17/07/04	12	32.458 ^b
23/07/04	12	36.333
30/07/04	12	40.333

a = Diferença estatisticamente significativa ($P < 0.01$) quando comparada à média do dia 09/07/04

b = Diferença estatisticamente significativa ($P < 0.05$) quando comparada à média do dia 09/07/04

APÊNDICE M - Comparação da média, mediana, valores mínimos e máximos da porcentagem de polimorfonucleares dos quartos mamários laterais direitos dentro do grupo dos animais tratados com antibiótico

Data	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo
09/07/04	12	78.000	95.420	86.360	99.350
10/07/04	12	70.000	93.580	70.270	97.180
11/07/04	12	47.000	86.050	45.090	93.960
15/07/04	12	47.000	78.090	60.000	90.000
17/07/04	12	38.000 ^a	69.670	40.630	79.030
23/07/04	12	23.000 ^{b/d}	54.095	25.000	76.790
30/07/04	12	33.000 ^{c/e}	48.075	0.000	100.00

a = Média estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do dia 09/07/04
b = Média estatisticamente significativa (P<0.001) quando comparada à média do dia 09/07/04
c = Média estatisticamente significativa (P<0.001) quando comparada à média do dia 09/07/04
d = Média estatisticamente significativa (P<0.001) quando comparada à média do dia 10/07/04
e = Média estatisticamente significativa (P<0.01) quando comparada à média do dia 10/07/04

APÊNDICE N - Comparação da média, mediana, valores mínimos e máximos da porcentagem de polimorfonucleares dos quartos mamários laterais direitos dentro do grupo dos animais tratados com homeopatia

Data	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo
09/07/04	12	68.667	94.440	82.610	98.380
10/07/04	12	50.000	89.065	67.250	95.520
11/07/04	10	34.250 ^a	83.675	35.920	93.580
15/07/04	12	41.958	85.780	58.330	96.670
17/07/04	12	33.875 ^b	83.435	33.330	89.360
23/07/04	12	25.542 ^c	79.315	35.710	85.710
30/07/04	12	35.000 ^a	83.430	11.110	93.680

a = Médias estatisticamente significativas ($P < 0.05$) quando comparadas à média do dia 09/07/04

b = Média estatisticamente significativa ($P < 0.01$) quando comparada à média do dia 09/07/04

c = Média estatisticamente significativa ($P < 0.001$) quando comparada à média do dia 09/07/04

APÊNDICE O - Comparação da média, mediana porcentagem de polimorfonucleares dos quartos mamários laterais direitos entre os grupos dos animais tratados com antibiótico e homeopatia

Data	Antibiótico			Homeopatia		
	n	Média	Mediana	n	Média	Mediana
09/07/04	12	20.292	95.420	12	17.708	94.400
10/07/04	12	21.333	93.580	12	17.500	89.065
11/07/04	12	19.750	86.050	10	18.100	83.675
15/07/04	12	12.208	78.090	12	17.292	85.780
17/07/04	12	10.917	69.670	12	19.375	83.435
23/07/04	12	8.917 ^{ab}	54.095	12	20.042	79.315
30/07/04	12	11.417	48.075	12	17.500	83.430

a = Média estatisticamente significativa ($P < 0.05$) quando comparada à média de %PMN do COCSC

b = Média estatisticamente significativa ($P < 0.01$) quando comparada à média de %PMN do COCSH

APÊNDICE P - Quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) isoladas dos quartos mamários laterais direitos dos animais do grupo tratado com antibióticos

Vaca	Quarto	8/7/2003	9/7/2003	10/7/2003	11/7/2003	15/7/2003	17/7/2003	23/7/2003	30/7/2003	6/8/2003
494	AD	0	1.500	0	200	0	0	900	10.000	2.700
	PD	0	1.700	9.000	50.000	0	0	0	0	0
549	AD	0	500	1.400	0	0	0	0	0	0
	PD	0	7.500	100.000	100	0	0	0	0	600
589	AD	0	4.000	1.200	100	700	0	0	0	0
	PD	0	1.400	100	0	0	0	0	0	0
7548	AD	0	4.100	100	0	0	0	0	0	0
	PD	0	1.700	2.500	1.100	0	0	0	0	0
7555	AD	0	600	200	0	0	0	0	0	0
	PD	0	500	2.300	0	0	0	0	0	0
9411	AD	0	1.800	20.000	10.000	0	0	0	0	0
	PD	0	700	100	0	0	0	0	0	0

APÊNDICE Q - Quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) isoladas dos quartos mamários laterais direitos dos animais do grupo tratado com homeopatia

Vaca	Quarto	8/7/2003	9/7/2003	10/7/2003	11/7/2003	15/7/2003	17/7/2003	23/7/2003	30/7/2003	6/8/2003
425	AD	0	0	0	600	800	0	0	100	100
	PD	0	200	0	1.400	0	0	200	0	100
427	AD	0	2.600	0	0	0	1.500	0	100	0
	PD	0	4.700	100	0	0	100	0	0	0
526	AD	0	0	0	1.100	100.000	20.000	100.000	10.000	30.000
	PD	0	300	900	1.000	100.000	100.000	10.000	12.000	40.000
8522	AD	0	100	0	0	0	0	0	0	0
	PD	0	0	0	500	0	100	0	0	0
9485	AD	0	400	3.100	1.500	10.000	16.000	6.000	20.000	20.000
	PD	0	200	0	0	0	0	0	0	0
9497	AD	0	1.800	1.300	10.000	10.000	15.000	4.600	3.600	50.000
	PD	0	1.600	3.200	6.200	10.000	20.000	18.000	8.000	50.000